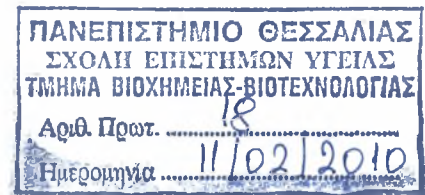


ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

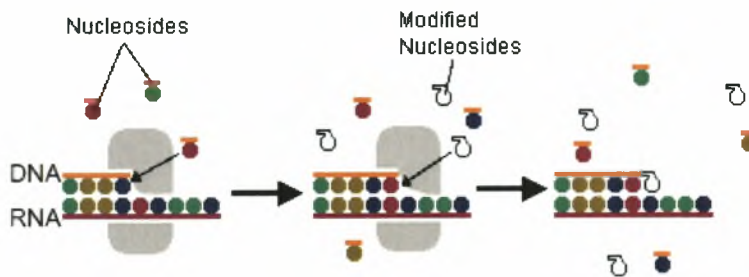
Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών του Τμήματος Βιοχημείας
και Βιοτεχνολογίας

«ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ- ΜΟΡΙΑΚΗ ΓΕΝΕΤΙΚΗ,
ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ»

Ρήγα Αλεξάνδρα



«Σύνθεση Φθοριωμένων Θειοπυριδινυλικών Αναλόγων
Νουκλεοζιτών ως Πιθανοί Κυτταροστατικοί Παράγοντες»



Λάρισα, 2010



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ & ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»

Αριθ. Εισ.: 8124/1

Ημερ. Εισ.: 16-03-2010

Δωρεά: _____

Ταξιθετικός Κωδικός: Δ

547.78

ΡΗΓ



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ



004000087125

«Σύνθεση Φθοριωμένων Θειοπυριδινυλικών Αναλόγων Νουκλεοζιτών ως
Πιθανοί Κυτταροστατικοί Παράγοντες»

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Κομιώτης Δημήτριος, Αναπλ. Καθηγητής Οργανικής Χημείας,
Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Λεωνίδας Δημήτριος, Αναπλ. Καθηγητής Βιοχημείας, Τμήματος
Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Μπαλατσός Νικόλαος, Λέκτορας Βιοχημείας, Τμήματος Βιοχημείας και
Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Ευχαριστίες:

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του Τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Οργανικής Χημείας κ. Κομιώτη Δημητρίου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον κ. Κομιώτη για τη εμπιστοσύνη που μου έδειξε αναθέτοντάς μου το συγκεκριμένο θέμα. Τον ευχαριστώ επίσης για την καθοδήγησή του ως προς την διεκπεραίωση της διπλωματικής μου εργασίας και για την ευκαιρία που μου έδωσε να συμμετάσχω στην εργαστηριακή του ομάδα και να αποκομίσω νέες γνώσεις, να αποκτήσω κριτική σκέψη και μια πολύτιμη εργαστηριακή εμπειρία.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα και φίλη μου Ευαγγελία Τσουκαλά. Οι συμβουλές της, οι υποδείξεις της και η συνεχής της υποστήριξη ήταν από τους βασικούς παράγοντες επιτυχίας των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τις Νίκη Τζιουμάκη και Στέλλα Μαντά για την ευχάριστη συνεργασία και το ευχάριστο κλίμα που μου παρείχαν.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Οι υδατάνθρακες είναι οργανικές ενώσεις που αποτελούν μία από τις τέσσερις κύριες κατηγορίες των βιομορίων μαζί με τις πρωτεΐνες, τα νουκλεϊκά οξέα και τα λιπίδια. Μέσα στα κύτταρα χρησιμεύουν ως αποθήκες ενέργειας, ως καύσιμα και ως μεταβολικά ενδιάμεσα. Επίσης, τα σάκχαρα ριβόζη και δεοξυριβόζη, αποτελούν μέρος του δομικού σκελετού των DNA και RNA. Τέλος, βρίσκονται στα κυτταρικά τοιχώματα φυτών και βακτηρίων.

Έχει διαπιστωθεί ότι πολλά φυσικά φάρμακα με αντιϊική και αντικαρκινική δράση περιέχουν νουκλεοζίτες αποτελούμενους από ολιγοσακχαρίτες συνδεδεμένους με κάποια ετεροκυκλική βάση. Η διαπίστωση αυτή οδήγησε στην σύνθεση τροποποιημένων νουκλεοζιτών με σκοπό την παραγωγή νέων φαρμάκων με αντιϊική και αντικαρκινική δράση. Με αυτόν τον τρόπο δημιουργήθηκε μια νέα σειρά φαρμάκων για την καταπολέμηση ιϊκών μολύνσεων καθώς και κάποιων μορφών καρκίνου.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον δόθηκε στη μελέτη των φθορο-θειοπυρανονουκλεοζιτών (νουκλεοζίτες με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο) προκειμένου να βρεθούν νέα αντικαρκινικά και αντιϊικά φάρμακα με μεγαλύτερη εκλεκτικότητα και λιγότερα ανοσοκατασταλτικά αποτελέσματα έναντι των έως τώρα χρησιμοποιούμενων ενώσεων. Η προσθήκη φθορίου καθώς και θείου στο μόριο του σακχάρου αποδείχτηκε ότι είναι μια καλή μέθοδος ενίσχυσης της βιολογικής δράσης.

Περιεχόμενα:

1.Εισαγωγή	
1.1.Υδατάνθρακες.....	6
1.2.Υδατάνθρακες και σχηματισμός ημιακετάλης.....	7
1.3.Νουκλεοζίτες.....	9
1.4.Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών.....	10
1.5.Νουκλεοζιτικά ανάλογα.....	13
1.5.1.Zidovudine.....	13
1.5.2.Didanosine.....	15
1.5.3.Zalcitabine.....	16
1.5.4.Τριφθοριοθυμιδίνη.....	17
1.6.Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα.....	18
1.6.1.Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με πενταμελή δακτύλιο.....	18
1.6.2. Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή δακτύλιο.....	20
1.6.3.Θειοπυριδινυλικά ανάλογα νουκλεοζιτών.....	22
2.Ειδικό Μέρος	
2.1.Σκοπός μελέτης.....	23
2.2.Μεθοδολογία σύνθεσης.....	26
3.Πειραματικό Μέρος	
3.1.Γενικές μέθοδοι.....	29
3.2.Αναλυτική μεθοδολογία σύνθεσης.....	30
4.Αποτελέσματα-Συζήτηση	
4.1.Χημικά χαρακτηριστικά ενώσεων.....	51
4.2.Ανάπτυξη ανασταλτικής δραστηριότητας.....	54
Βιβλιογραφία.....	56

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες, αποτελούν μια ομάδα οργανικών ουσιών, που ως προς το χημικό τύπο τους, είναι ενυδατωμένος άνθρακας, με γενικό τύπο $C_n(H_2O)_n$.

Οι βιολογικής σημασίας υδατάνθρακες ονομάζονται και σάκχαρα και αρχίζουν από τους μονοσακχαρίτες, όπως γλυκόζη και φρουκτόζη, και φθάνουν μέχρι πολύ σύνθετα μόρια που ονομάζονται πολυσακχαρίτες, όπως το άμυλο και η κυτταρίνη. Έτσι μερικοί είναι σχετικά μικροί, με μοριακά βάρη μικρότερα των $100 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, ενώ άλλοι είναι πραγματικά μακρομόρια, με μοριακό βάρος πολλές εκατοντάδες ή χιλιάδες $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Υπάρχουν τέσσερις κατηγορίες υδατανθράκων βιολογικού ενδιαφέροντος:

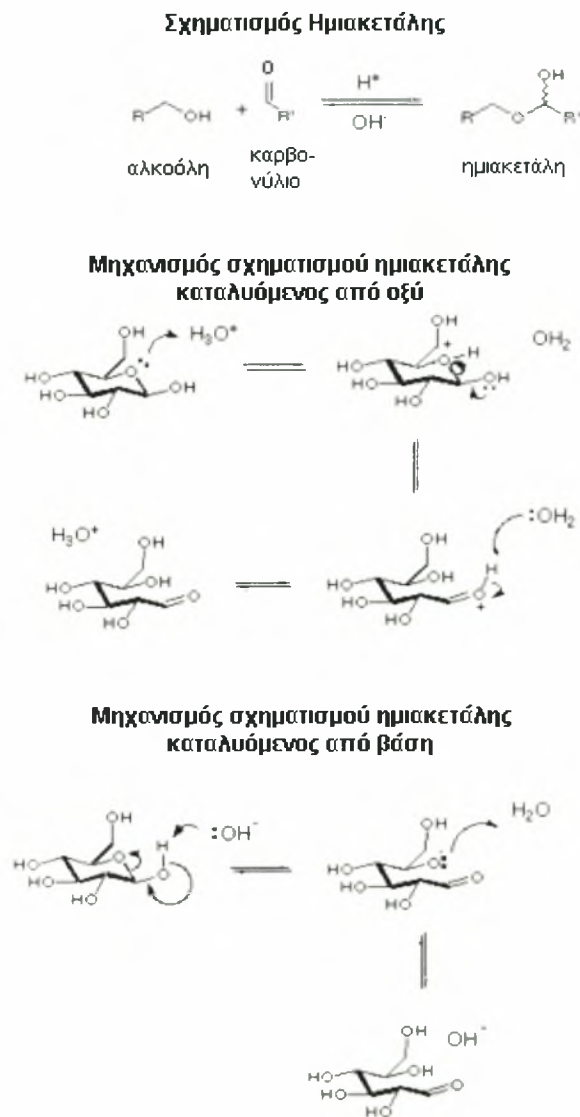
- Οι μονοσακχαρίτες, όπως η γλυκόζη και η φρουκτόζη, είναι τα μονομερή για τη σύνθεση πολυπλοκότερων δομών.
- Οι δισακχαρίτες αποτελούνται από δυο μονοσακχαρίτες.
- Οι ολιγοσακχαρίτες αποτελούνται από 20-30 μονοσακχαρίτες.
- Τέλος, οι πολυσακχαρίτες, που αποτελούνται από εκατοντάδες χιλιάδες υπομονάδες μονοσακχαριτών.

Συνεπώς όλοι οι σύνθετοι υδατάνθρακες είναι δημιουργήματα από απλές μονάδες τους μονοσακχαρίτες οι οποίοι και δεν μπορούν να υδρολυθούν σε απλούστερη δομή. Κυριότεροι υδατάνθρακες είναι: οι μονοσακχαρίτες γλυκόζη, φρουκτόζη, ριβόζη και δεοξυριβόζη, οι δισακχαρίτες λακτόζη, μαλτόζη και σακχαρόζη, οι πολυσακχαρίτες άμυλο, γλυκογόνο και κυτταρίνη.

Οι μονοσακχαρίτες, οι απλούστεροι υδατάνθρακες, είναι αλδεΐδες ή κετόνες με δύο ή περισσότερες υδροξυλικές ομάδες. Οι μικρότεροι μονοσακχαρίτες με $n=3$ είναι η διυδροξυακετόνη και η D- ή L-γλυκεραλδεΐδη και αναφέρονται ως τριόζες. Απλοί μονοσακχαρίτες με τέσσερα, πέντε, έξι και επτά άτομα άνθρακα καλούνται τετρώζες, πεντόζες, εξόζες και επτόζες αντίστοιχα.

1.2 Υδατάνθρακες και Σχηματισμός Ημιακετάλης

Οι ανοιχτές αλυσίδες των πεντοζών και εξοζών έχουν την τάση να κυκλοποιούνται όταν βρίσκονται μέσα σε διαλύματα. Με άλλα λόγια η επικρατέστερη μορφή των σακχάρων αυτών όταν βρίσκονται σε διάλυμα είναι η μορφή του δακτυλίου⁽¹⁾ (εικόνα 1).



Εικόνα 1. Μηχανισμός σχηματισμού Ημιακετάλης

το μονήρες ζεύγος ηλεκτρονίων του οξυγόνου των H_3O^+ ή OH^- .

Γ) Απόσπαση ενός πρωτονίου που οδηγεί στον σχηματισμό μιας ουδέτερης ημιακετάλης.

Η αντίδραση μιας καρβονυλικής ένωσης με μια αλκοόλη έχει ως αποτέλεσμα τον σχηματισμό μιας ημιακετάλης.

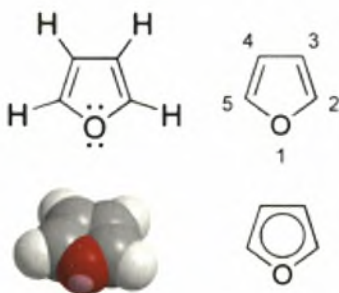
Η αντίδραση του σχηματισμού ημιακετάλης είναι μια αμφίδρομη αντίδραση η οποία καταλύεται παρουσία και οξέος (H_3O^+) και βάσης (OH^-).

Ο μηχανισμός σχηματισμού της ημιακετάλης περιλαμβάνει:

A) Πρωτονίωση του καρβονυλικού οξυγόνου η οποία πολώνει έντονα το καρβονύλιο.

B) Ενεργοποίηση της καρβονυλικής ομάδας για πυρηνόφιλη προσβολή από

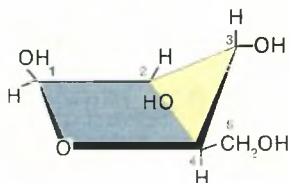
Στη φρουκτόζη για παράδειγμα, η κετονομάδα στον C-2 του τύπου της ανοικτής αλυσίδας είναι σε θέση να αντιδράσει με την υδροξυλομάδα του C-5 για να σχηματιστεί μια ενδομοριακή ημιακετάλη. Ο πενταμελής δακτύλιος του σακχάρου καλείται φουρανόζη, λόγω ομοιότητας του με το φουράνιο (εικόνα 2) ⁽²⁾.



Εικόνα 2. Φουράνιο

Κατά την κυκλοποίηση της φρουκτόζης δημιουργείται ένα πρόσθετο ασύμμετρο κέντρο. Ο άνθρακας C-2 μετατρέπεται σε ένα ασύμμετρο κέντρο στο δακτύλιο. Μπορεί να προκύψουν δυο δομές: η α -D-φρουκτοφουρανόζη και η β -D-φρουκτοφουρανόζη. Ο χαρακτηρισμός α σημαίνει ότι το υδροξύλιο που συνδέεται στον άνθρακα C-2 βρίσκεται κάτω από το επίπεδο του δακτυλίου, ενώ β σημαίνει ότι βρίσκεται πάνω από το επίπεδο του. Ο άνθρακας C-2 καλείται ανωμερής και κατά συνέπεια οι μορφές α και β , ανωμερείς.

Ο πενταμελής δακτύλιος της φουρανόζης δεν είναι επίπεδος. Οι δακτύλιοι φουρανόζης μπορούν να είναι πτυχωμένοι έτσι ώστε τα τέσσερα άτομα άνθρακα να είναι στο ίδιο επίπεδο και το πέμπτο εκτός επιπέδου αυτού (εικόνα 3).



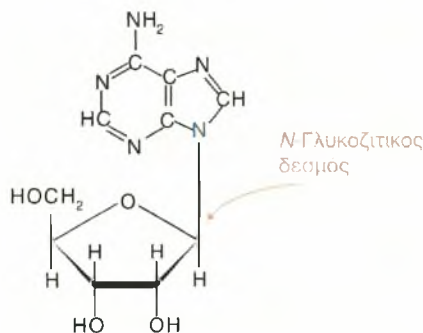
Εικόνα 3. Μορφή φακέλου της β -D-ριβόζης ⁽²⁾

Αυτή η διαμόρφωση καλείται μορφή φακέλου γιατί μοιάζει με ανοιχτό φάκελο έχοντας το πίσω μέρος ανασηκωμένο. Οι δακτύλιοι της φουρανόζης είναι σε θέση να αλληλομετατρέπονται ταχύτατα σε διαφορετικές στερεοδιατάξεις και είναι αρκετά ευέλικτοι, γεγονός που εξηγεί την επιλογή ως συστατικών των RNA και DNA. ^(1,2)

1.3.Νουκλεοζίτες

Οι νουκλεοζίτες είναι γλυκοσυλαμίνες που αποτελούνται από μία αζωτούχα νουκλεοβάση (αδενίνη, θυμίνη, γουανίνη, κυτοσίνη, ουρακίλη) συνδεδεμένη με μία ριβόζη ή μια δεοξυριβόζη μέσω ενός β-γλυκοσιδικού δεσμού. ^(3,4)

Έχει αποδειχτεί ότι πολλά ανάλογα νουκλεοζιτών έχουν έντονη αντιιική, αντιβιοτική και αντικαρκινική δράση.



Εικόνα 4. Ο N-γλυκοσιδικός δεσμός στην Αδενοσίνη ⁽²⁾

1.4 Τρόπος δράσης νουκλεοζιτών

Οι νουκλεοζίτες συντίθενται κυρίως ενδοκυτταρικά, τα κύτταρα όμως έχουν μηχανισμούς πρόσληψης νουκλεοζιτών από διπλανά κύτταρα ή τον ενδιάμεσο χώρο. Η δυνατότητα μεταφοράς τους εντός των κυττάρων με παθητική διάχυση, παρέχει στα ανάλογα νουκλεοζιτών με αντιιική ή/και αντικαρκινική δράση την ικανότητα χρήσης τους για θεραπεία πολλών ασθενειών. ⁽⁵⁾

Ο τρόπος δράσης των φαρμάκων έγκειται στην αλληλεπίδρασή τους με μοριακούς στόχους, οι οποίοι μπορεί να είναι είτε κάποια πρωτεΐνη (υποδοχείς, δίαυλοι ιόντων, ένζυμά, μόρια μεταφορείς), είτε τα νουκλεϊκά οξέα. ⁽⁶⁾

Τα νουκλεοζιτικά ανάλογα είναι χημικά τροποποιημένες εκδόσεις των φυσικών νουκλεοζιτών. Το πιο χρήσιμο χαρακτηριστικό τους είναι η αποτελεσματική πρόσληψη από τις ιϊκές πολυμεράσες. Η ειδική διαμόρφωση των ιϊκών πολυμερασών βοηθάει στην επιλογής τους, πολλές φορές, ως στόχο ενός αντιϊκού παράγοντα. Η συγκεκριμένη μέθοδος ενίσχυσε την παραγωγή των νουκλεοζιτών ως ειδικών αντιϊκών φαρμάκων. ⁽⁷⁻⁹⁾

Από τους νουκλεοζίτες ενδοκυτταρικά παράγονται τα νουκλεοτίδια, τα οποία χρησιμοποιούνται από τις πολυμεράσες ως βασικές δομικές μονάδες για τη σύνθεση των DNA και RNA. Οι νουκλεοζίτες, μιμούμενοι τους φυσικούς νουκλεοζίτες, καταλαμβάνουν τη θέση τους, κατά την αντιγραφή, στο ιϊκό γονιδίωμα με τη βοήθεια των αντίστοιχων πολυμερασών. Μετά από την ενσωματώσή τους στην επιμηκυνόμενη αλυσίδα η αντιγραφή του ιού καταστέλλεται λόγω εξασθένησης της σύνθεσης ή της λειτουργίας του ιϊκού γονιδιώματος. ⁽⁸⁾

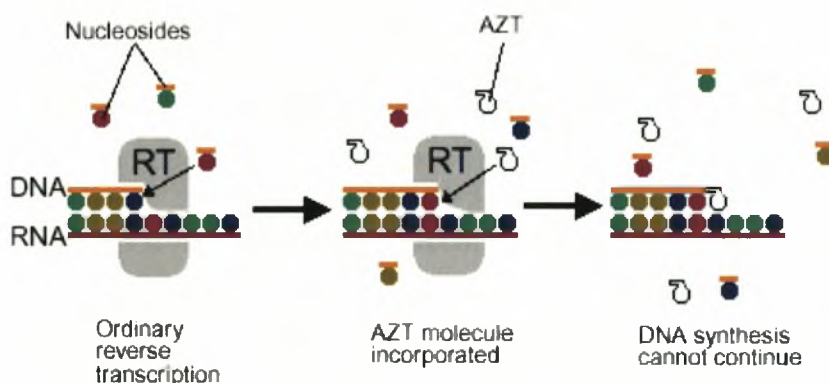
Τα ανάλογα νουκλεοζιτών αποτελούν προφάρμακα. Αυτό στην πράξη σημαίνει ότι η ενδοκυτταρική τροποποίησή τους είναι απαραίτητη ώστε να μπορέσουν να δράσουν. Η επεξεργασία που υφίστανται είναι η φωσφορυλίωση στην 5'-θέση του υδατάνθρακα από τις κυτταρικές κινάσες.

Η φωσφορυλίωση κάνει τα ανάλογα νουκλεοζιτών ικανά να ανταγωνιστούν τους φυσικούς νουκλεοζίτες για τη σύνθεση των νουκλεϊκών οξέων. Επειδή η αντιγραφή των νουκλεϊκών οξέων είναι κοινή για όλες τις μορφές των ιών, τα ανάλογα νουκλεοζιτών ενδεχομένως έχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην αντιϊκή θεραπεία.

Οι φωσφορυλιωμένες ενώσεις ιονίζονται λόγω του διαφορετικού pH στα διάφορα κυτταρικά διαμερίσματα, και δεν διέρχονται εύκολα μέσω των μεμβρανών των κυττάρων. Οι ενεργές μορφές των νουκλεοτιδίων αποτελούν

τριφωσφορικά άλατα, με όλες τις αντικαταστάσεις φωσφορικών στην 5'- θέση. Ειδικές ιϊκές –κινάσες συχνά καταλύουν την πρώτη 5'- φωσφορυλίωση των αναλόγων νουκλεοζιτών, ενώ την επόμενη καταλύουν οι κυτταρικές κινάσες. Συνέπεια αυτού είναι η συσσώρευση των αναλόγων φωσφορυλιωμένων νουκλεοτιδίων στα κύτταρα που έχουν μολυνθεί από τον ιό. Τα τμήματα των νουκλεϊκών οξέων διαμορφώνονται από τις κυτταρικές πολυμεράσες, οι οποίες συνδέουν το 5'-P- νουκλεοτίδιο στην 3'-υδροξυλομάδα ενός άλλου νουκλεοτιδίου. Κατά τη διαδικασία αυτή απελευθερώνεται μια πυροφωσφορική ομάδα (PPi), έτσι τα δυο σάκχαρα συνδέονται με φωσφοδιεστερική γέφυρα. ^(1,2,11)

Το σάκχαρο, είναι η μερίδα του νουκλεοζίτη που χρησιμεύει ως υπόστρωμα για τις κινάσες και τις πολυμεράσες που απαιτούνται για τη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων και την επιμήκυνση των αλυσίδων. Εάν ένα ανάλογο νουκλεοτιδίων δεν έχει μια 3'-υδροξυλομάδα, δεν μπορεί να ενωθεί με την 5'-φωσφορική ομάδα του επόμενου νουκλεοτιδίου, κι αυτό παρεμποδίζει αποτελεσματικά την επιμήκυνση της αλυσίδας (εικόνα 5).



Εικόνα 5. Τερματισμός αλυσίδας

Τα ανάλογα νουκλεοζιτών προσδοκάται ότι θα είναι αποτελεσματικά ενάντια των περισσοτέρων (εάν όχι όλων) ιών.⁽¹⁾ Η ειδικότητά τους έγκειται στην ενεργοποίηση της δράσης του φαρμάκου από το ιικό ένζυμο ή/και στο ότι οι ιικές πολυμεράσες μπορεί να είναι πολύ πιο ευαίσθητες στη δράση του φαρμάκου από ότι τα αντίστοιχα ένζυμα του κυττάρου ξενιστή.⁽¹²⁾

Επιπλέον, το ιικό ένζυμο δε διαθέτει ειδικότητα σύνδεσης με τα φυσικά νουκλεοτίδια, σε αντίθεση με το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή. Οπότε, το ιικό ένζυμο μπορεί να δρα και σε ανάλογα νουκλεοζιτών (διαφορετικό υπόστρωμα) και να τα φωσφορυλιώνει, ενώ το ένζυμο του κυττάρου ξενιστή θα τα αφήνει ανεπηρέαστα εφόσον δεν είναι εφικτή η σύνδεση ενζύμου- υποστρώματος.^(12,13)

Οι ιοί μπορούν να αντιμετωπιστούν εκλεκτικά με νουκλεοζίτες και ανάλογα νουκλεοζιτών. Η εκλεκτική αυτή αναστολή τους μπορεί να επιτευχθεί είτε με την αναστολή κάποιου από τα στάδια της μόλυνσης του κυττάρου, όπως η προσκόλληση του ιού σε κάποιον κυτταρικό υποδοχέα, η διείσδυση του στο κύτταρο, η αποβολή του περιβλήματος και η απελευθέρωση του ιού εντός του κυτταροπλάσματος, ή/και με την κατά προτίμηση αναστολή κάποιων σταδίων της πορείας πολλαπλασιασμού του ιού, τα οποία είναι κοινά με το κύτταρο ξενιστή και περιλαμβάνουν τη μεταγραφή και τη μετάφραση.⁽⁶⁾

Οι νουκλεοζίτες μπορούν να αναστείλουν τη δράση βασικών ενζύμων στο μεταβολισμό των νουκλεϊκών οξέων ή/ και μπορούν να ενσωματωθούν στα νουκλεϊκά οξέα κατά τη συνθεσή τους προκαλώντας τον τερματισμό των αλυσίδων ή την παραγωγή μη λειτουργικών βιομορίων.

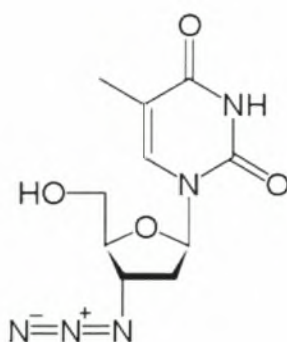
Το συνηθέστερο αποτέλεσμα των παραπάνω ενεργειών είναι ο κυτταρικός θάνατος, ο οποίος όσον αφορά τη θεραπεία του καρκίνου και των αυτοάνοσων νοσημάτων είναι επιθυμητός. Επιπλέον, οι ενώσεις που μπορούν να στοχεύσουν επιλεκτικά στα βακτηριακά ή στα ιικά ένζυμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αντιβιοτικοί ή αντιϊκοί παράγοντες.⁽⁶⁾

1.5 Νουκλεοζιτικά Ανάλογα

Τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιούνται ορισμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα για την καταπολέμηση σοβαρών ασθενειών όπως αυτή της επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (HIV). Μερικά από τα νουκλεοζιτικά αυτά ανάλογα είναι τα εξής: το Zidovudine azidothymidine (AZT), το Didanosine (DDI), το Zalcitabine (DDC) και η τριφθοριοθυμιδίνη. Πρέπει να τονίσουμε ότι τα νουκλεοζιτικά αυτά ανάλογα διαθέτουν για σάκχαρο μία πεντόζη.

1.5.1 Zidovudine (AZT: 3'-Azido-2'-deoxythymidine)

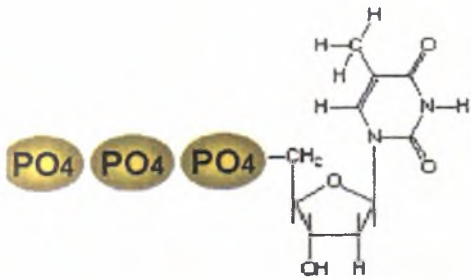
Το Zidovudine ή AZT είναι ένα νουκλεοζιτικό ανάλογο αναστολέας της αντίστροφης μεταγραφάσης δηλαδή του ενζύμου που χρησιμοποιούν οι ιοί και συγκεκριμένα οι ρετροϊοί για να συνθέσουν DNA και να πολλαπλασιαστούν. Συνεπώς αποτελεί έναν τύπο αντιρετροϊκού φαρμάκου. Είναι ανάλογο της θυμιδίνης και χορηγείται για την θεραπεία του AIDS δηλαδή της μόλυνσης από τον ιό της ανθρώπινης επίκτητης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1mj).



Εικόνα 6. Η χημική δομή του AZT ⁽¹²⁾

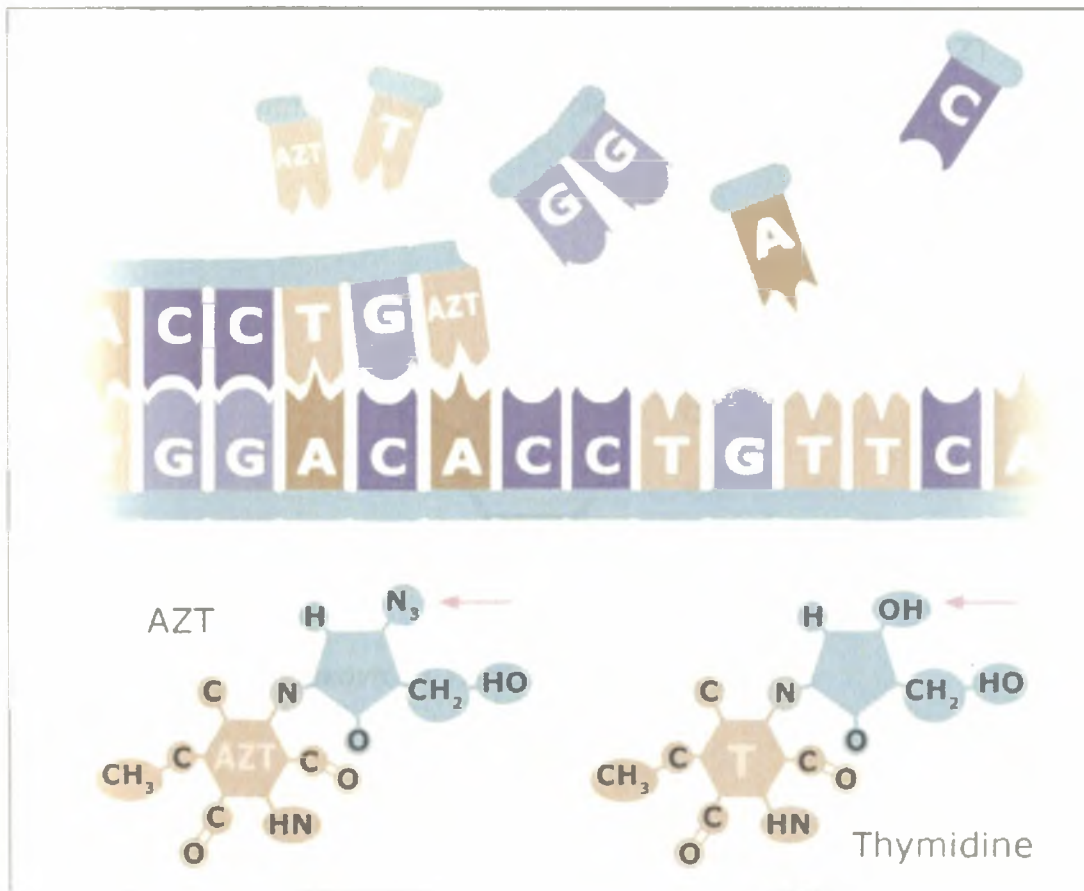
Είναι ανάλογο της θυμιδίνης και χορηγείται για την θεραπεία του AIDS δηλαδή της μόλυνσης από τον ιό της ανθρώπινης επίκτητης

ανοσοανεπάρκειας. Το φάρμακο αυτό αναστέλλοντας την δράση της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού, εμποδίζει την σύνθεση RNA και κατ' επέκταση DNA και τον πολλαπλασιασμό των ιών. Τα κυτταρικά ένζυμα μετατρέπουν το Zidovudine σε ενεργή μρφή 5'-τριφωσφορικού άλατος (εικόνα 8).



Εικόνα 7. Στη θυμιδίνη προστίθενται τρεις φωσφορικές ομάδες. Η πρώτη φωσφορυλίωση γίνεται από το ιικό ένζυμο και οι υπόλοιπες από τα κυτταρικά ένζυμα. ⁽¹³⁾

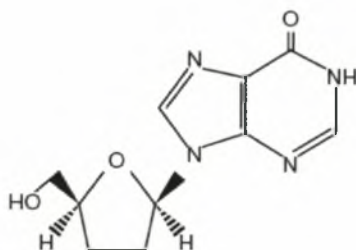
Η απουσία της 3'-υδροξυλομάδας στο Zidovudine είναι ο καθοριστικός παράγοντας του τερματισμού της αλυσίδας του DNA.



Εικόνα 8. Ανάλογο νουκλεοζιτών στον τερματισμό αλυσίδων ⁽¹⁴⁾

1.5.2 DDI ή Didanosine

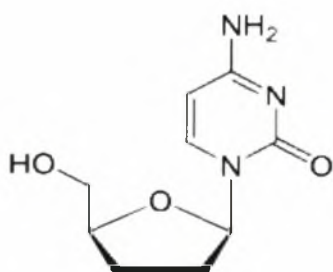
Το DDI είναι ένα συνθετικό πουρινικό νουκλεοσιδικό ανάλογο δραστικό ενάντια στον ιό της ανθρώπινης επίκτητης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1). Η δράση του είναι ανάλογη του AZT δηλαδή παρεμποδίζει την λειτουργία της ιικής αντίστροφης μεταγραφάσης. ⁽¹⁵⁾



Εικόνα 9. Η χημική δομή του DDI ⁽¹⁵⁾

1.5.3 DDC ή zalcitabine

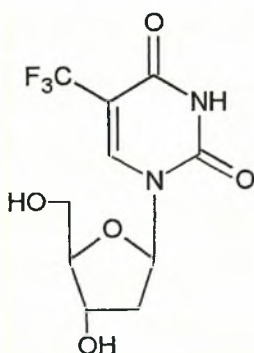
Το DDC ή αλλιώς διδεοξυκυτιδίνη έχει παρόμοια δράση με το AZT και το DDI δηλαδή χρησιμοποιείται ως αντιρετροϊκό φάρμακο. ⁽¹⁶⁾



Εικόνα 10. Η χημική δομή του DDC ⁽¹⁶⁾

1.5.4 Τριφθοριοθυμιδίνη

Η τριφθοριοθυμιδίνη (εικόνα 12) είναι ένα φθοριωμένο ανάλογο θυμιδίνης, το οποίο ενεργοποιείται από τα κυτταρικά ένζυμα ύστερα από φωσφορυλίωση σχηματίζοντας ένα τριφωσφορυλιωμένο παράγωγο. Το φθοριωμένο αυτό ανάλογο στοχεύει στην αναστολή του πολλαπλασιασμού του ιού του απλού έρπητα (HSV: Herpes Simplex Virus). Η ενεργοποιημένη μορφή της τριφθοριοθυμιδίνης, μπλοκάρει τη λειτουργία της θυμιδικής συνθετάσης και της ιικής και κυτταρικής DNA πολυμεράσης, ενσωματώνεται στο DNA του ιού και του κυττάρου-ξενιστή, προκαλώντας διαταραχή στη δομή του DNA. Προκλινικές μελέτες προβλέπουν πως η τριφθοριοθυμιδίνη εκδηλώνει μεταλλαξιογόνο και τερατογόνο δράση. ⁽¹⁶⁾



Εικόνα 11. Τριφθοριοθυμιδίνη ⁽¹⁶⁾

1.6 Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα

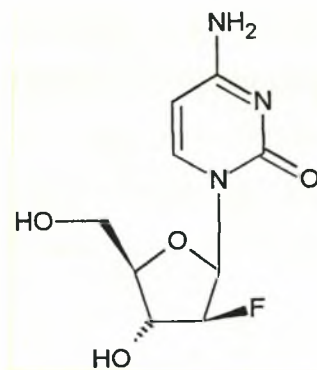
1.6.1 Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με πενταμελή δακτύλιο

Φθοροφουρανόζες-φθορονουκλεοζίτες

Οι φθοροφουρανόζες είναι σάκχαρα με πενταμελή δακτύλιο που έχουν ενσωματωμένο ένα φθόριο στο τμήμα του πενταμελούς δακτυλίου.⁽¹⁷⁾ Η παρουσία φθορίου προσδίδει σταθερότητα στο μόριο, αυξάνει την ηλεκτραρνητικότητα καθώς και το λιπόφιλο χαρακτήρα του διευκολύνοντας με αυτόν τον τρόπο τη διαπερατότητα της κυτταρικής μεμβράνης. Αυτά τα χαρακτηριστικά αυξάνουν την αποτελεσματικότητα του νουκλεοζίτη ως φάρμακο. Αξίζει να σημειώσουμε ότι η αντικατάσταση ενός υδρογόνου από το φθόριο αλλάζει ελάχιστα τη λειτουργία του νουκλεοζίτη ενώ η μεγάλη ισχύς του δεσμού C-F, σε σχέση με αυτή του δεσμού C-H, παρεμποδίζει το μεταβολισμό του με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ημιζωής του μορίου.

Πρόσφατες κλινικές μελέτες απέδειξαν την αποτελεσματικότητα κάποιων φθορονουκλεοζιτών σε ορισμένες μορφές καρκίνου όπως σε κάποιους τύπους λευχαιμίας, στο καρκίνωμα του παχέος εντέρου και του ήπατος. Ένα τέτοιο παράδειγμα αποτελεί η ένωση 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-β-D-αραβινοφουρανόζυλο) νουκλεοζίτης της κυτοσίνης (FAC) (εικόνα 13), η οποία αποδείχθηκε αποτελεσματική σε κυτταρικές σειρές κάποιων τύπων λευχαιμίας καθώς και σε κυτταρικές σειρές κυττάρων καρκινώματος του παχέος εντέρου.

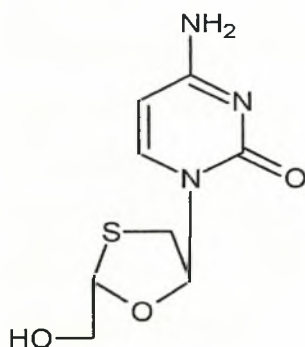
⁽¹⁸⁾



Εικόνα 12. 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-β--αραβινοφουρανόζυλο) κυτοσίνη, FAC ⁽¹⁸⁾

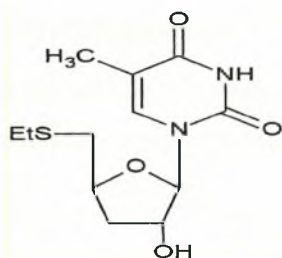
Θειοφουρανόζες-θειονουκλεοζίτες

Τα θειοσάκχαρα και τα παράγωγά τους, ⁽¹⁹⁾ είναι σάκχαρα που περιέχουν ένα άτομο θείου εντός του δακτυλίου τους ή ως υποκαταστάτες, παρουσιάζουν μοναδικές φυσικοχημικές ιδιότητες και παρουσιάζουν αξιοσημείωτη βιολογική δράση. Οι θειονουκλεοζίτες έχουν μελετηθεί ευρέως εξαιτίας της αποτελεσματικής βιολογικής τους δράσης και αναγνωρίζονται ως σημαντική κατηγορία αντιϊικών και αντικαρκινικών παραγόντων. Σήμερα, ένας 4'-θειονουκλεοζίτης, η 3TC (*Lamivudine* ⁽²⁰⁾), εικόνα 14) είναι ένα αντί-HIV φάρμακο όταν χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το 3'-Azido-2'-deoxythymidine (AZT) ως ανασταλτικός παράγοντας του ενζύμου της αντίστροφης μεταγραφάσης, με την ίδια δράση όπως το AZT. Επειδή η 3TC έχει την L-διαμόρφωση της πεντοφουρανόζης, ποικίλα ανάλογα πεντοφουρανόζης έχουν συντεθεί και εξεταστεί για αντιϊικές και άλλες βιολογικές ιδιότητες.



Εικόνα 13. 3TC, 2'-3'-dideoxy-3'-thiacytidine

Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι ανάμεσα σε ποικίλα 5'-αλκυλοθειονουκλεοζίτες, η 5'-αιθυλο-5'-δεοξυθυμιδίνη (εικόνα 15) είναι ένας μη ανταγωνιστικός αναστολέας της κυτταροπλασματικής κινάσης της θυμιδίνης (C-TK), του απαραίτητου "προάγγελου" στις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές. Ενδιαφέρουσα όμως είναι και η δράση του αναλόγου αυτού σε L1210 κύτταρα λευχαιμίας. ⁽²¹⁾



Εικόνα 14. 5'-αιθυλο-5'-δεοξυθυμιδίνη ⁽²¹⁾

1.6.2 Τροποποιημένα νουκλεοζιτικά ανάλογα με εξαμελή δακτύλιο (πυρανονουκλεοζίτες)

Μέχρι σήμερα οι έρευνες επικεντρωνόνταν στη δημιουργία φαρμάκων που έχουν ως σάκχαρο μία πεντόζη και φέρουν τη β-απεικόνιση. Οι πεντόζες αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης και επεξεργασίας από τη στιγμή που η ριβόζη και η δεοξυριβόζη ταυτοποιήθηκαν ως συστατικά των νουκλεϊκών οξέων. Όλα τα νουκλεοτίδια των DNA και RNA αποτελούνται από ένα D-πεντοφουρανοζικό σάκχαρο συνδεδεμένο με μία ετεροκυκλική αζωτούχα νουκλεοβάση (πουρίνη ή πυριμιδίνη), μέσω ενός β-N-γλυκοσιδικού δεσμού. Όμως, η χρήση των φουρανονουκλεοζιτικών αναλόγων, έχει αρκετά μειονεκτήματα τα οποία πηγάζουν από τον ανεπαρκή μεταβολισμό τους προς τις ενεργές τριφωσφορικές δομές τους, τη χημική ή ενζυματική απενεργοποίησή τους, την τοξικότητα, την εμφάνιση νέων ανθεκτικών ιών και όγκων και τέλος απο τον μικρό χρόνο ημιζωής και κατά συνέπεια χρόνο δράσης τους. Για όλους αυτούς τους λόγους το ενδιαφέρον των επιστημόνων στράφηκε στη μελέτη της αντικαρκινικής και αντιϊικής δράσης νέων νουκλεοζιτικών αναλόγων και ειδικότερα αυτών που φέρουν ως σάκχαρο μια εξόζη. ^(22,23) Η έρευνα για την ανακάλυψη αντιϊικών και αντικαρκινικών

νουκλεοζιτών με εξαμελή υδατανθρακικό δακτύλιο είχε μείνει αρκετά πίσω σε σχέση με αυτή των βιολογικώς ενεργών νουκλεοζιτών με τροποποιημένους πενταμελείς δακτυλίου.

Ένα από τα ενδιαφέροντα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν είναι αυτό που στηρίχτηκε στη χρήση του hTTP, το anhydrohexitol τριφωσφορικό ανάλογο του dTTP, ως υπόστρωμα του ενζύμου αντιγραφής για προσπάθεια συμπληρωματικότητας με τη δεοξυαδενοσίνη ή το anhydrohexitol ανάλογό της. Οι 1,5-Anhydro-2,3-dideoxy-D-arabino-hexitol νουκλεοζίτες είναι ανάλογα νουκλεοζιτών με εξαμελή δακτύλιο στη θέση του σακχάρου και με τη βάση υποκατεστημένη στη θέση 2'.⁽²⁴⁾

Φθοροπυρανονουκλεοζίτες

Οι πιο πρόσφατες έρευνες στην σύνθεση των τροποποιημένων νουκλεοζιτικών αναλόγων⁽²⁵⁻²⁷⁾ ταυτοποιούν ότι οι φθορο-πυρανονουκλεοζίτες είναι αποδοτικοί αναστολείς της αντικαρκινικής ανάπτυξης και έχουν υποσχόμενη δραστηριότητα για την ιική μόλυνση. Βιολογικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο οργανικής χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας απέδειξαν ότι νέα φθοριωμένα νουκλεοζιτικά ανάλογα διαθέτουν ενδιαφέρουσες αντικαρκινικές και αντιϊικές ιδιότητες.⁽²⁵⁻²⁷⁾ Ειδικότερα, αποδείχθηκε ότι μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη αντι-εντεροϊικών φαρμάκων καθώς και ότι αποτελούν αν δυνάμει αντι-αδενοκαρκινικούς παράγοντες. Επιπλέον τα νέα μόρια παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροτοξική δράση έναντι διαφόρων καρκινικών κυτταρικών σειρών, και πιο συγκεκριμένα έναντι των ανθρώπινων γαστρικών καρκινικών κυττάρων (AGS), των κυττάρων καρκινώματος του στήθους (MCF-7), των κυττάρων αδενοκαρκινώματος του παχέος εντέρου (Caco-2) και των κυττάρων μελανώματος του δέρματος.

1.6.3. Θειοπυριδινυλικά ανάλογα νουκλεοζιτών

Στα πλαίσια ερευνών των τροποποιημένων νουκλεοζιτών με σκοπό την εύρεση νέων θεραπευτικών παραγόντων, η παρουσία ενός ατόμου θείου στο σάκχαρο του νουκλεοζίτη έχει θεωρηθεί σημαντική εξαιτίας των ιδιαίτερων χημικών ιδιοτήτων που προσδίδει στο μόριο και της αλλαγής της βιολογικής του δραστηριότητας. Θεωρήθηκε λοιπόν σκόπιμη η μελέτη τόσο των θειοπυρανονουκλεοζιτών, όσο και των δισουλφιδικών και θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτικών αναλόγων τα οποία υπόσχονται σημαντικές ανιϊκές και αντικαρκινικές ιδιότητες. Ειδικότερα δισουλφιδικά νουκλεοζιτικά ανάλογα της κυτοσίνης καθώς και το 3-μέθυλο-δισουλφιδικό νουκλεοζιτικό ανάλογο της θυμιδίνης αποδείχτηκαν ικανά να συμμετέχουν στην HIV αντίστροφη μεταγραφή, ενώ το τελευταίο μπορεί να θεωρηθεί ως υποσχόμενο προφάρμακο του αντίστοιχου βιοδραστικού 3-μερκαπτό-νουκλεοζίτη. Παρ'όλα αυτά αν και πολλά δισουλφιδικά νουκλεοζιτικά ανάλογα που προέρχονται από θειοσάκχαρα αποδείχτηκε ότι μπορούν να θεωρηθούν ελπιδοφόρα για την ανάπτυξη βιολογικά ενεργών παραγόντων, πολύ λίγο είναι το ενδιαφέρον που στράφηκε σ'αυτά.

2.ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1 Σκοπός μελέτης

Τα αντιβακτηριακά, αντιϊικά και αντιογκογόνα φάρμακα περιλαμβάνονται μεταξύ των πιο σημαντικών θεραπευτικών ανακαλύψεων του εικοστού αιώνα και έχουν αλλάξει δραστικά τη θεραπευτική αγωγή πολλών ασθενειών, μειώνοντας τη νοσηρότητα και τη θνησιμότητα.

Στόχος της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η σύνθεση και η μελέτη τροποποιημένων θειοπυρανοζών, φθοροθειογλυκοπυρανονουκλεοζιτών και των αντίστοιχων φθοριωμένων θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτικών αναλόγων.

Έρευνες των τελευταίων ετών έδειξαν ότι:

Η συμπληρωματικότητα σχήματος παίζει σημαντικό ρόλο στην ικανότητα του ενζύμου να δεχθεί ως υποστρώματα τους συνθετικούς νουκλεοζίτες. Μέρος της ευθύνης, για την αναγνώριση τους από τις πολυμεράσες και την ενσωμάτωση τους στην νεοσυντιθέμενη αλυσίδα, φέρει το τμήμα του σακχάρου. Αποτελέσματα συγγενών πειραμάτων οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι τα τροποποιημένα ανάλογα νουκλεοζιτών και νουκλεοτιδίων πρέπει να διαθέτουν ένα μερικώς επίπεδο κατάλοιπο σακχάρου με περιορισμένη ευκαμψία. Αυτό οδήγησε στη μελέτη νουκλεοζιτών με εξαμελή δακτύλιο. Αυτοί οι νουκλεοζίτες έχουν χαρακτηριστεί με ενδιαφέρουσες αντιϊκές και αντιβιοτικές ιδιότητες, καθώς και ως δομικά μόρια για τη σύνθεση νουκλειικών οξέων. Ένας ακόμη πολύ σημαντικός λόγος που το ενδιαφέρον στράφηκε στους φθοροθειονουκλεοζίτες με εξαμελή δακτύλιο είναι η αυξημένη ανθεκτικότητα στην υδρόλυση, αφού το σπάσιμο του γλυκοσιδικού δεσμού αποτελεί συχνά φραγμό στη δράση των αντιϊκών νουκλεοζιτών, οδηγώντας τα σε αποικοδόμηση.

Η εισαγωγή ενός ατόμου φθορίου στο σάκχαρο των νουκλεοζιτών μεταβάλλει με διάφορους τρόπους τη βιολογική δραστικότητα των διαφόρων κυττάρων και ενζύμων, συμπεριλαμβανομένων των κινασών, DNA

πολυμερασών, ριβονουκλεασών και αναγωγασών.⁽²⁸⁾ Η αντικατάσταση του υδρογόνου με φθόριο έχει ερευνηθεί εκτενώς στη βιοχημεία φαρμάκων και έχει διαπιστωθεί ότι ενισχύει τη βιολογική δραστηριότητα και αυξάνει τη χημική ή μεταβολική σταθερότητα καθότι:

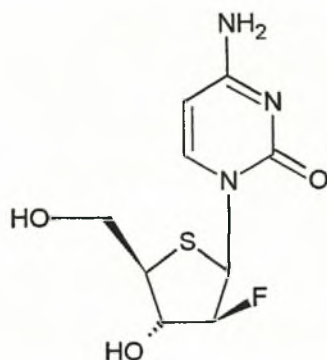
- Έχει μικρή Wan der Waals ακτίνα (1.35 Å) που μοιάζει πολύ με την ακτίνα του υδρογόνου (1.20 Å).
- Η μεγάλη ηλεκτραρνητικότητα του ενισχύει τις ιδιότητες του μορίου.
- Η αυξημένη σταθερότητα και η μεγαλύτερη ισχύς του δεσμού άνθρακα-φθορίου αναστέλλει τον μεταβολισμό με αποτέλεσμα την αύξηση του χρόνου ημιζωής του μορίου.
- Αυξάνει το λιπόφιλο χαρακτήρα του μορίου διευκολύνοντας έτσι τη διαπερατότητά του διαμέσου της κυτταρικής μεμβράνης.⁽²³⁾

Η εισαγωγή ενός ατόμου θείου τόσο στο δακτύλιο του σακχάρου ενός νουκλεοζίτη όσο και ως υποκαταστάτης κάποιου άνθρακα του δακτυλίου αλλάζει σημαντικά τη συμπεριφορά της διαμόρφωσης του μορίου, τη χημική του δραστηριότητα, το μοριακό εντοπισμό του από πρωτεΐνες καθώς και τη μεταβολική σταθερότητα. Η αντικατάσταση του οξυγόνου με θείο έχει διαπιστωθεί ότι προσδίδει ιδιαίτερες χημικές ιδιότητες στο μόριο και αλλάζει τη βιολογική δραστηριότητα καθότι:

- Είναι μεγαλύτερο ως άτομο από το οξυγόνο.
- Το μήκος δεσμού άνθρακα-θείου είναι μεγαλύτερο [C-S 1.82 Å (0.182 nm) C-O 1.43 Å (0.143nm)], άρα ο δεσμός πιο ασθενής και λιγότερο πολικός από αυτόν του άνθρακα-οξυγόνου.
- Η γωνία C-S-C (95-100 °) είναι πιο έντονη από αυτή C-O-C.⁽²⁹⁾

Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο) νουκλεοζίτης της κυτοσίνης (FAC) του οποίου η δραστηριότητα έναντι καρκινικών κυττάρων αυξάνεται σημαντικά με την αντικατάσταση του ατόμου του οξυγόνου του δακτυλίου από ένα άτομο θείου, προκύπτοντας έτσι ένα νέο πιο δραστικό ανάλογο, ο 1-(2'-δεοξυ-2'-φθορο-4'-

θειο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο) νουκλεοζίτης της κυτοσίνης (4'-thio-FAC) (εικόνα 17).⁽²⁰⁾



Εικόνα 15. 1-(2'-δεοξυ'-2'-φθορο-4'-θειο-β-D-αραβινοφουρανοζυλο) κυτοσίνη (4'-thio-FAC).⁽²⁰⁾

Όπως προαναφέρθηκε, η εισαγωγή του ατόμου του θείου, όπως και του φθορίου, μεταβάλλει τη βιολογική δραστηριότητα ενζύμων των κυττάρων, όπως κινασών και DNA πολυμερασών. Έρευνες έχουν δείξει ότι ανάμεσα σε ποικίλα ανάλογα νουκλεοζιτών, οι 5'-αλκυλοθειονουκλεοζίτες έχουν δράση μη ανταγωνιστικών αναστολέων της κυτταροπλασματικής θυμιδίνης (C-TK), του απαραίτητου 'προάγγελου' στις ανθρώπινες καρκινικές κυτταρικές σειρές.⁽²¹⁾

Βασιζόμενοι στα παραπάνω στοιχεία θεωρήθηκε σημαντική η σύνθεση μίας νέας τάξης φθοροθειονουκλεοζιτών και των αντίστοιχων φθοριωμένων θειοπυριδινυλικών αναλόγων τους, συνδυάζοντας τη δράση των δύο ατόμων, του φθορίου και του θείου. Η νέα τάξη των νουκλεοζιτών αυτών θα έχει ως σάκχαρο εξαμελή δακτύλιο, ως ετεροκυκλική βάση θα έχει θυμίνη, ουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, κυτοσίνη ή αδενίνη, φθόριο στη θέση 3' και θειοπυριδινυλική ομάδα στη θέση 6' του σακχάρου.

Θεωρήθηκε σκόπιμη η μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας των νεοσυντιθέντων ενώσεων καθώς και της δράσης τους ως φάρμακα (**τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Βέλγιο, στο Rega Institute for Medical Research**)

2.2 Μεθοδολογία Σύνθεσης

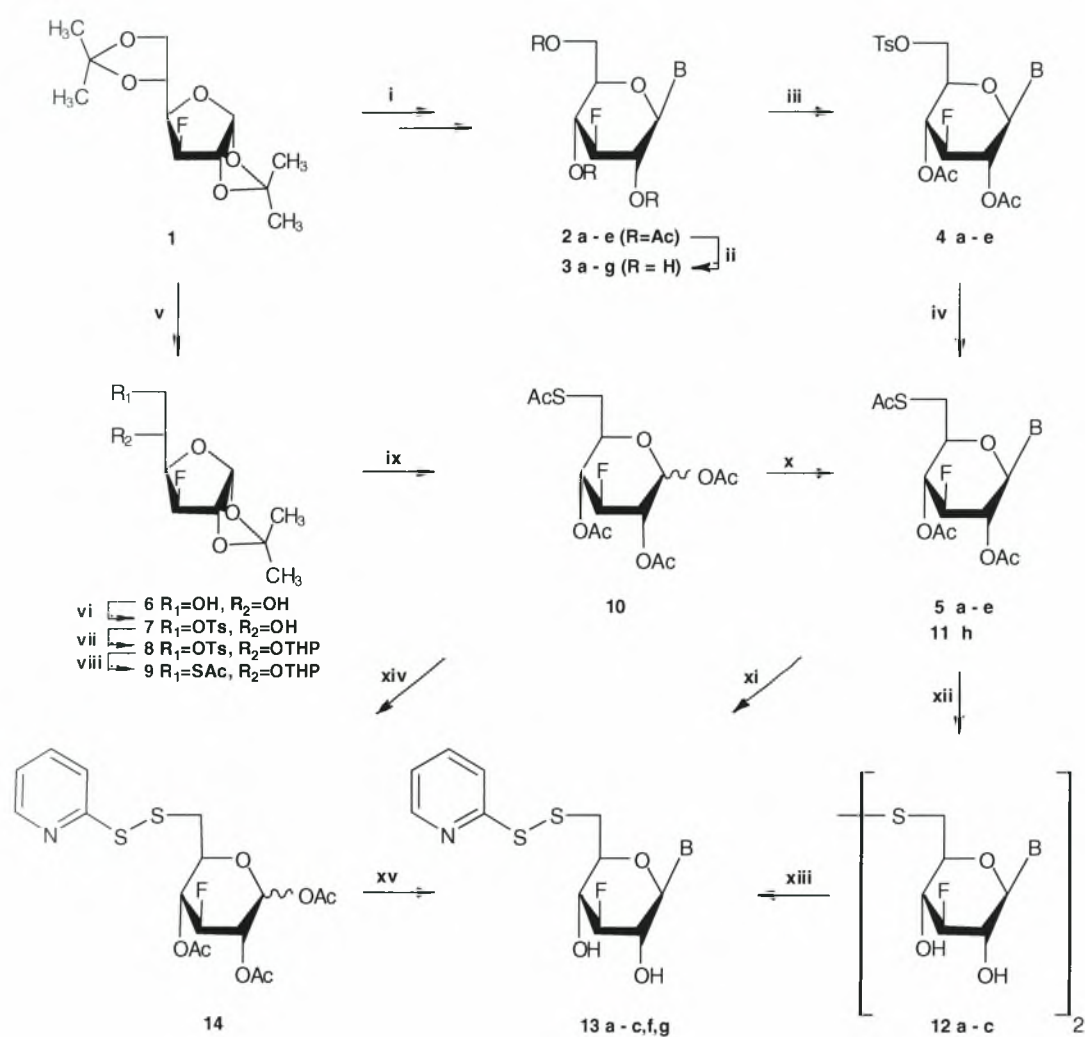
Για τη σύνθεση των φθοριωμένων θειοπυριδινυλικών νουκλεοζιτικών αναλόγων χρησιμοποιήθηκαν δύο συνθετικές πορείες.

Η πρώτη συνθετική πορεία βασίζεται στη σύνθεση των 3-φθορο-6-θειο-γλυκοπυρανονουκλεοζιτών της θυμίνης (**5a**), της ουρακίλης (**5b**), της 5-φθοροουρακίλης (**5c**), *N*⁴-βενζοΰλο κυτοσίνης (**5d**) και της *N*⁶-βενζοΰλο αδενίνης (**5e**) έχοντας ως αρχική ένωση την 1,2-5,6-δι-*O*-ισοπροπυλιδενο-3-δεοξυ-3-φθορο-α-*D*-αλλοφουρανόζη (**1**)⁽³¹⁾. Η ένωση **1** μετατράπηκε στην ανάλογη 1,2,4,6-τετρα-*O*-ακέτυλο-3-δεοξυ-3φθορο-γλυκοπυρανόζη⁽³²⁾. Οι 3-δεοξυ-3-φθορο-γλυκοπυρανονουκλεοζίτες **2a-e** αποκτήθηκαν με συμπύκνωση των 1,2,4,6-τετρα-*O*-ακέτυλο-3-δεοξυ-3φθορο-γλυκοπυρανοζών⁽⁵³⁾. Επιλεκτική αποπροστασία των **2a-c** με μεθανολική αμμωνία και των **2d,e** με NaOH-μεθανόλη-πυριδίνη οδήγησαν στη παραγωγή των νουκλεοζιτικών αναλόγων **3a-c** και **3d,e** με πολύ καλες αποδόσεις αντίστοιχα. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα πλήρως αποπροστατευμένα παράγωγα **3f,g** ελήφθησαν μετά από επεξεργασία των προστατευμένων νουκλεοζιτών με μεθανολική αμμωνία.^(25,27,33) Επεξεργασία των **3a-e** με πτολουολοσουλφονυλοχλωρίδιο σε άνυδρη πυριδίνη και στη συνέχεια ακετυλίωση των ελεύθερων υδροξυλίων στους άνθρακες C-2' και C-4' με τη χρήση οξικού ανυδρίτη/πυριδίνης παρείχε τα επιθυμητά ακετυλιωμένα 6-*O*-τοσυλιωμένα παράγωγα **4a-e** σε πολύ καλές αποδόσεις. Στο επόμενο βήμα της συνθετικής πορείας, τα τοσυλιωμένα παράγωγα **4a-e**, μετά από επεξεργασία με θειοξικό κάλιο σε DMF^(19,26,34) μετατράπηκαν στα αντίστοιχα θειοακετυλο παράγωγα : 1-(2,4-δι-*O*-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζική)θυμίνη (**5a**), 1-(2,4-δι-*O*-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζική)ουρακίλη (**5b**), 1-(2,4-δι-*O*-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλη (**5c**), 1-(2,4-δι-*O*-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁴-βενζοΰλο κυτοσίνη (**5d**), 9-(2,4-δι-*O*-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁶-βενζοΰλο αδενίνη (**5e**).

Το εναλλακτικό συνθετικό μονοπάτι βασίστηκε στην ιδέα ότι η ένωση **10** θα ήταν κατάλληλη για την παρασκευή των επιθυμητών νουκλεοζιτών. Ξεκινώντας από την ένωση **1**⁽³¹⁾ (1,2:5,6-δι-Ο-ισοπροπυλιδενο-3-δεοξυ-3-φθορο-α-D-αλλοφουρανόζη) καταλήξαμε στην ένωση **8** με μία πορεία που περιελάμβανε επιλεκτική απομάκρυνση του 5,6-ισοπροπυλιδενίου και παραγωγή της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-Ο-ισοπροπυλιδενο-α-D-γλυκοφουρανόζης (**6**), επιλεκτική σουλφονύλιωση με π-τολουολοσουλφονυλοχλωρίδιο σε πυριδίνη και επεξεργασία με διυδροπυράνιο (DHP) και π-τολουολοσουλφονυλικό οξύ σε άνυδρο CH₂Cl₂. Αντικατάσταση της τοσυλομάδας με μία θειοακετυλο ομάδα οδήγησε στην παραγωγή της ένωσης **9** η οποία μετά από υδρόλυση σε υδατικό διάλυμα τριφθοροοξικού οξέος 90% και απευθείας ακετυλίωση έδωσε την ένωση **10**. Τέλος, για την παραγωγή των επιθυμητών 6-θειο-3-φθορο-γλυκοπυρανοζικών νουκλεοζιτών **5a-e** και **11h** η ένωση **10** συζεύκτηκε με τις αντίστοιχες πουρινικές και πυριμιδινικές βάσεις.

Τα φθοριωμένα θειοπυριδινυλικά ανάλογα νουκλεοζιτών **13a-c,f,g** αρχικά συντέθηκαν από τους νουκλεοζίτες **5a-e**. Αποπροστασία των β-προστατευμένων θειονουκλεοζιτών **5a-e** με μεθανολική αμμωνία και απευθείας θειοπυριδινύλιωση με νερό, μεθανόλη, και 2,2-διπυριδινυλικό δισουλφίδιο (DTDP) σε θερμοκρασία δωματίου⁽³⁵⁾ οδήγησαν στην παραγωγή των ενώσεων **13a-c**. Οι αντιδράσεις ολοκληρώθηκαν σε 20 h και οι αποδόσεις των αντιδράσεων ήταν μεγαλύτερες από 65% στις περισσότερες από αυτές. Οι προσπάθειες για απομόνωση και αποθήκευση των πλήρως αποπροστατευμένων νουκλεοζιτών οδήγησαν στο σχηματισμό των αντίστοιχων συμμετρικών δισουλφιδίων **12a-c** οι οποίες μετά από θειοπυριδινύλιωση παρήγαγαν τα φθοριωμένα θειοπυριδινυλικά νουκλεοζιτικά ανάλογα **13a-c**. Τα προϊόντα **5d,e** δεν απομονώθηκαν με αντίστοιχη διαδικασία καθώς η επεξεργασία τους οδήγησε στην κατατροφή τους. Η ανάγκη να ξεπεραστεί αυτή η δυσκολία οδήγησε στην επιλογή μίας εναλλακτικής συνθετικής πορείας τέτοιας ώστε οι θειονουκλεοζίτες να παράγονται από μία θειοπυριδινυλική ένωση. Με αυτόν τον τρόπο, ξεκινώντας από την αποπροστασία της ένωσης **10** με μεθανολική αμμωνία,

θειοπυριδινυλίωση (8 mol excess of DTDP/MeOH/H₂O) και συνεχίζοντας με ακετυλίωση λήφθηκε η ένωση **14**, η οποία έχει τα χαρακτηριστικά που χρειάζονται ώστε να χρησιμοποιηθεί ως πρόδρομη ένωση για τη σύνθεση των επιθυμητών νουκλεοζιτών. Για τη σύνθεση των νουκλεοζιτών **13a-c,f,g** ακολουθούν αντιδράσεις γλυκοσυλίωσης της ένωσης **14** με τις αντίστοιχες αζωτούχες βάσεις.



a: Θυμίνη
 b: Ουρακίλη
 c: 5-F-Ουρακίλη
 d: Bz-Κυτοσίνη
 e: Bz-Αδενίνη
 f: Κυτοσίνη
 g: Αδενίνη
 h: Χλωροπυρίνη

Σχήμα 1

3. Πειραματικό μέρος

3.1. Γενικές μέθοδοι

Χρωματογραφία χάρτου/λεπτής στοιβάδας

Η πορεία των αντιδράσεων ελέγχτηκε με χρωματογραφία χάρτου (σε πλάκες silica Merck 60F₂₅₄) και η οπτικοποίηση έγινε μεσω UV ακτινοβολίας ή/και ψεκάζοντας με διάλυμα H₂SO₄ (θειικού οξέος) 30%.

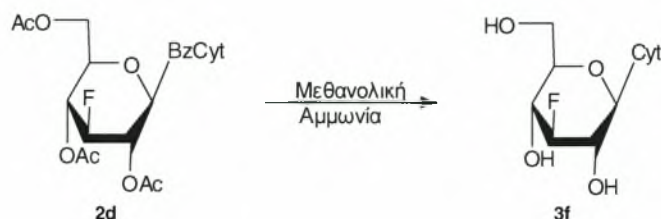
Χρωματογραφία στήλης

Ο καθαρισμός των προϊόντων έγινε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκε silica σε μορφή σκόνης. Για αυτές τις χρωματογραφίες χρησιμοποιήθηκαν ως οργανικοί διαλύτες έκλουσης εξάνιο και οξικός αιθυλεστέρας σε διαφορετικές αναλογίες για κάθε προϊόν.

Τα προϊόντα **2d** και **2e** συντέθηκαν στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας από την διδάκτορα Στυλιανή Μαντά. Το προϊόν **6** συντέθηκε στο εργαστήριο Οργανικής Χημείας του τμήματος Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας από την υποψήφια διδάκτορα Ευαγγελία Τσουκαλά. Η σύνθεση των θειοπυρανονουκλεοζιτών **5a-c**, έχει επαναληφθεί στα πλαίσια διπλωματικής εργασίας ακολουθώντας την πρώτη συνθετική πορεία.

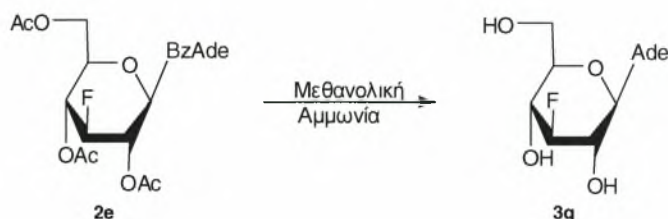
3.2. Αναλυτική μεθοδολογία σύνθεσης

1. Σύνθεση της 1-(3-δεοξυ-3-φθορό-β-γλυκοπυρανοζυλο)κυτοσίνης (**3f**)



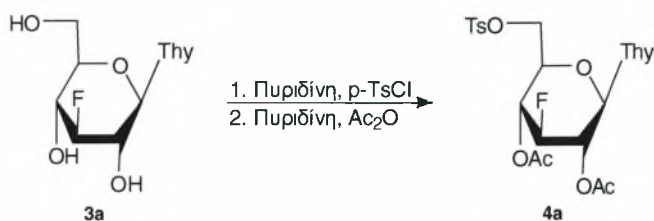
Η ένωση 1-(2,4,6-τρι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*^β-βενζοϋλο-κυτοσίνης (**2d**) (1.70g, 3.36mmol) τοποθετήθηκε σε διάλυμα μεθανολικής αμμωνίας (140ml) υπό αναδεύση για 4h σε θερμοκρασία δωματίου. Το μίγμα της αντίδρασης συμπυκνώθηκε και το προϊόν **3f** αποκτήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό σε μορφή άχρωμου ελαίου. (Μάζα 0.83g, απόδοση 90%, R_f :0.15)

2. Σύνθεση της 9-(3-δεοξυ-3-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)αδενίνης(**3g**)



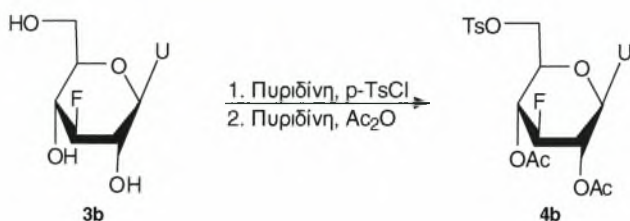
Η ένωση **3g** συντέθηκε από την 9-(2,4,6-τρι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*^β-βενζοϋλο-αδενίνη (**2e**) με διαδικασία αντίστοιχη αυτής που περιγράφεται για την ένωση **3f**. Η ένωση **3g** αποκτήθηκε σαν άχρωμο έλαιο και χρησιμοποιήθηκε χωρίς περαιτέρω καθαρισμό. (Μάζα 0.85g, απόδοση 88%, R_f :0.12)

3. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*O*-π-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνης (**4a**)



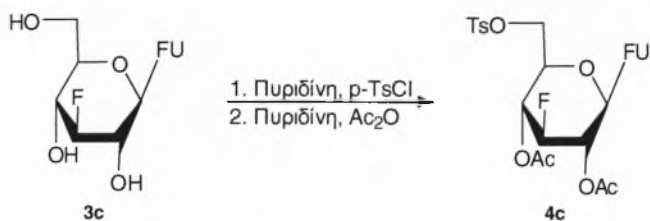
Σε διάλυμα του προϊόντος **3a** (1.10g, 3.70mmol) σε πυριδίνη (4.50ml) πραγματοποιήθηκε αργή προσθήκη π-τολουολοσουλφονυλοχλωριδίου σε 0°C και υπό ανάδευση. Το μίγμα της αντίδρασης παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για μία νύχτα και στη συνέχεια συμπυκνώθηκε. Μετά τη συμπύκνωση ακολούθησε επαναδιάλυση σε πυριδίνη (49ml) και οξικό ανυδρίτη (25ml) και το νέο μίγμα αναδεύτηκε για 3h σε θερμοκρασία δωματίου. Έπειτα προστέθηκε μεθανόλη ώστε να σταματήσει η αντίδραση και το μίγμα συγκεντρώθηκε υπό κενό ώστε να απομακρυνθούν οι διαλύτες. Ακολούθησε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (2x200mL), πλύση του εκχυλίσματος με υδατικό διάλυμα NaHCO₃ και NaHSO₄. Η οργανική φάση ξηράνθηκε με Na₂SO₄ και τέλος συμπυκνώθηκε. Ο καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/η-εξανίου σε αναλογία 6:4, δίνοντας το προϊόν **4a** με τη μορφή λευκού στερεού. (Μάζα 1.20g, απόδοση 62%, R_f:0.35)

4. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*O*-π-τολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλης (**4b**)



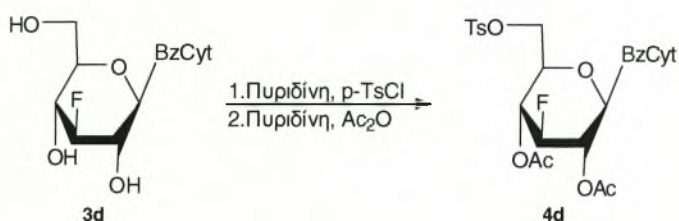
Το προϊόν **4b** συντέθηκε από το προϊόν **3b** με αντίστοιχη διαδικασία της σύνθεσης του **4a**. Ο καθαρισμός έγινε με χρωματογραφία στήλης με αναλογία οξικού αιθυλεστέρα/η-εξανίου 7:3 και το προϊόν λήφθηκε τη μορφή λευκού στερεού. (Μάζα 1.10g, απόδοση 62%, R_f:0.4)

5. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*O*-πτολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (**4c**)



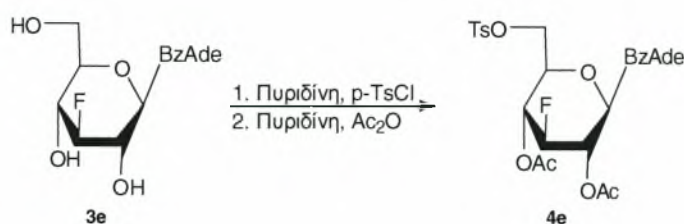
Η ένωση **4c** συντέθηκε από την ένωση **3c** με την αντίστοιχη διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση της ένωσης **4a**. Ο καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης πραγματοποιήθηκε με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/*n*-εξανίου σε αναλογία 6:4. Το προϊόν της αντίδρασης αποκτήθηκε υπό τη μορφή λευκού στερεού μετά τη συμπύκνωση του. (Μάζα 1.18g, απόδοση 60%, *R_f*:0.4)

6. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*O*-πτολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁴-βενζοΐλο κυτοσίνης (**4d**)



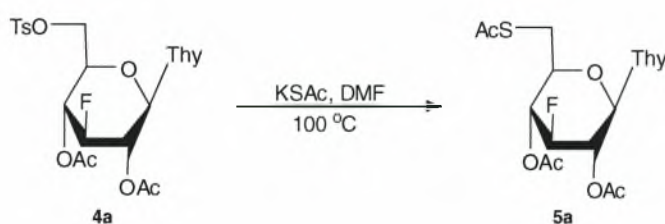
Η ένωση **4d** συντέθηκε από την ένωση **3d** με την αντίστοιχη διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση της ένωσης **4a**. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/*n*-εξανίου σε αναλογία 6:4. Το προϊόν της αντίδρασης αποκτήθηκε υπό τη μορφή λευκού αφρού μετά τη συμπύκνωση του. (Μάζα 1.41g, απόδοση 62%, *R_f*:0.4)

7. Σύνθεση της 9-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*O*-πτολουολοσουλφονυλο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)-*N*⁶-βενζοΐλο αδενίνης (**4e**)



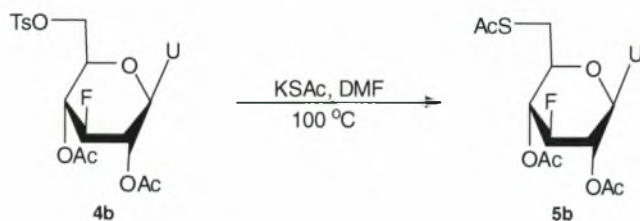
Η ένωση **4e** συντέθηκε από την ένωση **3e** με την αντίστοιχη διαδικασία που χρησιμοποιήθηκε για τη σύνθεση της ένωσης **4a**. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/*n*-εξανίου σε αναλογία 7:3. Το προϊόν της αντίδρασης αποκτήθηκε υπό τη μορφή λευκού στερεού μετά τη συμπύκνωση του. (Μάζα 1.52g, απόδοση 64%, *R*_f:0.3)

8. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνης (**5a**)



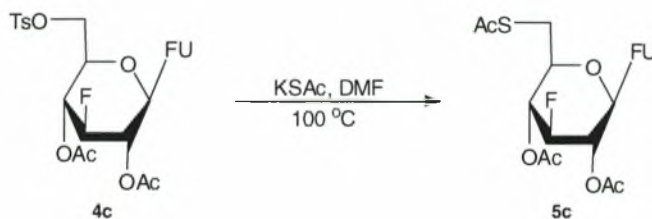
Διάλυμα του τοσυλιωμένου προϊόντος **4a** (1.20g, 2.30 mmol) σε DMF (8,70 ml) θερμάνθηκε στους 100 °C για 2 h μαζί με potassium thioacetate (0.36g, 3.10 mmol). Το μίγμα της αντίδρασης στη συνέχεια εξουδετερώθηκε με υδατικό διάλυμα NaHCO₃. Μετά την εξουδετέρωση συμπυκνώθηκε υπό κενό ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Μετά τη συμπύκνωση πραγματοποιήθηκε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα και πλύση με νερό. Η οργανική φάση ξηράθηκε (Na₂SO₄), διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Ακολούθησε χρωματογραφία στήλης με οξικό αιθυλεστέρα/ *n*-εξάνιο σε αναλογία 6:4 και αποκτήθηκε το προϊόν **5a** σε μορφή λευκού στερεού. (Μάζα προϊόντος 0.75g, απόδοση 78%, *R*_f:0.4)

9. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλης (**5b**)



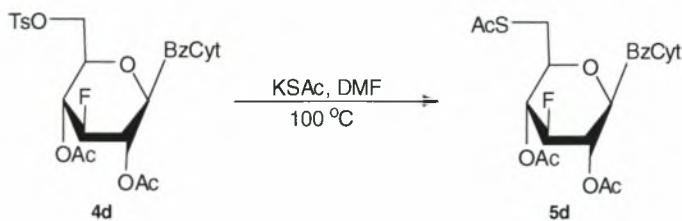
Το προϊόν **5b** συντέθηκε από το **4b** με διαδικασία αντίστοιχης αυτής που περιγράφεται για το **5a**. Ο καθαρισμός έγινε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/*n*-εξανίου σε αναλογία 7:3 και το προϊόν λήφθηκε υπό τη μορφή λευκού στερεού. (Μάζα 0.64g, απόδοση 76%, R_f :0.45)

10. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (**5c**)



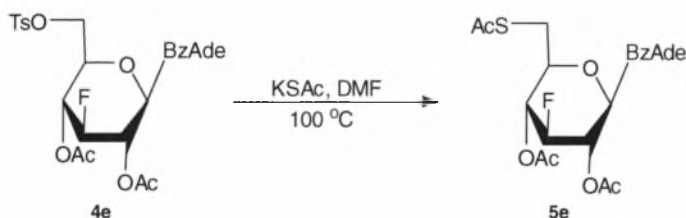
Το προϊόν **5c** συντέθηκε από το **4c** με διαδικασία αντίστοιχης αυτής που περιγράφεται για το **5a**. Ο καθαρισμός έγινε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/*n*-εξανίου σε αναλογία 6:4. Το προϊόν αποκτήθηκε υπό τη μορφή λευκού στερεού. (Μάζα 0.65g, απόδοση 75%, R_f :0.47)

11. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁴-βενζοΐλο κυτοσίνης (**5d**)



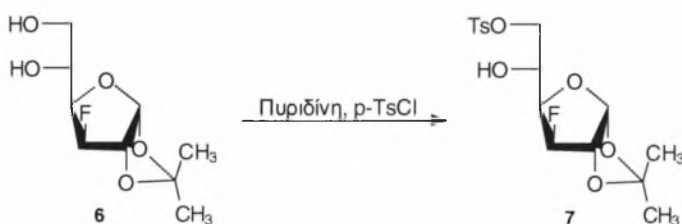
Το προϊόν **5d** συντέθηκε από το **4d** με διαδικασία αντίστοιχης αυτής που περιγράφεται για το **5a**. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/η-εξανίου σε αναλογία 8:2. Το προϊόν αποκτήθηκε υπό τη μορφή στερεού. (Μάζα 0.82g, απόδοση 68%, R_f :0.32)

12. Σύνθεση της 9-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁶-βενζοΐλο αδενίνης (**5e**)



Το προϊόν **5e** συντέθηκε από το **4e** με διαδικασία αντίστοιχης αυτής που περιγράφεται για το **5a**. Ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/η-εξανίου σε αναλογία 8:2. Το προϊόν αποκτήθηκε υπό τη μορφή στερεού. (Μάζα 0.61g, απόδοση 60%, R_f :0.24)

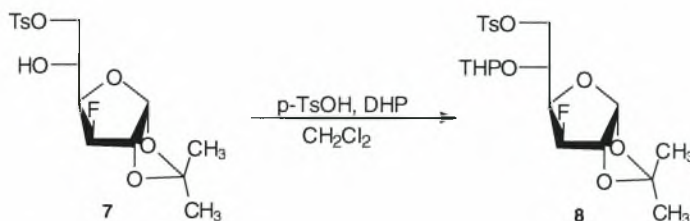
13. Σύνθεση της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπροπυλιδενό-6-*O*-π-τολουολοσουλφονυλο-α-D-γλυκοφουρανόζης (**7**)



Σε διάλυμα της διόλης **6** (4.0g, 18mmol) σε άνυδρη πυριδίνη (46.2mL) προστέθηκε π-τολουολοσουλφονυλοχλωρίδιο. Το μίγμα αναδεύτηκε για

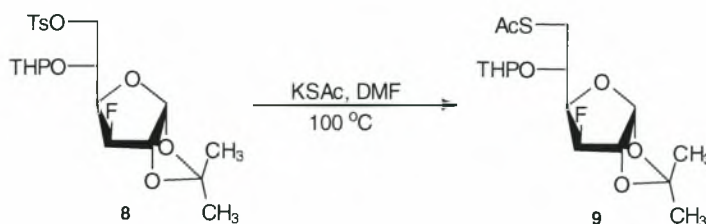
2 h σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε εξουδετέρωση και στη συνέχεια εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα (4x500mL) . Τα εκχυλίσματα που συλλέχθηκαν ξηράθηκαν (Na_2SO_4) διηθήθηκαν και συμπυκνώθηκαν πλήρως. Ακολούθησε καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με οξικό αιθυλεστέρα/η-εξάνιο σε αναλογία 1:1. Μετά από συμπύκνωση αποκτήθηκε το προϊόν **7** σε μορφή άχρωμου ελαίου. (Μάζα 5.08g, απόδοση 74%, R_f :0.45)

14. Σύνθεση της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπυριδεδενο-5-*O*-τετραϋδροπυρανό-6-*O*-π-τολουολοσουλφονυλο- α -D-γλυκοφουρανόζης (**8**)



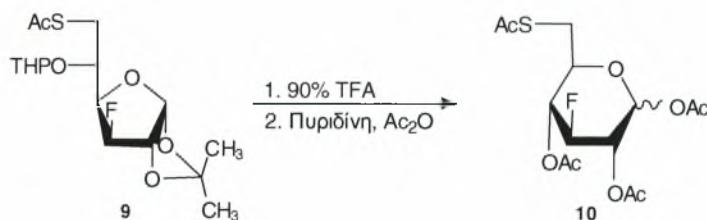
Σε διάλυμα της ένωσης **7** με π-τολουολοσουλφονικό οξύ (0.25g, 1.33mmol) σε άνυδρο διχλωρομεθάνιο (CH_2Cl_2) στους 0°C , προστέθηκε 3,4-διυδρο-πυράνιο (1.8mL, 19.9mmol). Μετά από 2 h σε θερμοκρασία δωματίου, το μίγμα της αντίδρασης εξουδετερώθηκε με υδατικό διάλυμα NaHCO_3 και ακολούθησε εκχύλιση με CH_2Cl_2 (2x1L). Οι οργανικές φάσεις που συλλέχθηκαν ξηράθηκαν με Na_2SO_4 και συμπυκνώθηκαν υπό κενό. Ακολούθησε καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα/η-εξάνιου σε αναλογία 7:3, συμπύκνωση για να απομακρυνθούν οι διαλύτες και έτσι λήφθηκε το προϊόν **8** με τη μορφή υπόλευκου ελαίου. (Μάζα 4.78g, απόδοση 78%, R_f :0.48)

15. Σύνθεση της 3-δεοξυ-3-φθορο-1,2-*O*-ισοπροπυλιδενο-5-*O*-τετραϋδροπυρανολο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-α-D-γλυκοφουρανοζη (**9**)



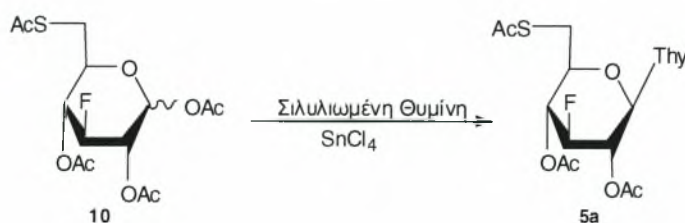
Διάλυμα του προϊόντος **8** (4.5g, 9.8 mmol) μαζί με θειοοξικό κάλιο (1.5g, 13.5mmol) σε DMF (39.2 mL) θερμάνθηκαν στους 100⁰C για 1 h. Το μίγμα της αντίδρασης στη συνέχεια εξουδετερώθηκε με άνυδρο NaHCO₃ και συμπυκνώθηκε υπό κενό ώστε να εξατμιστεί ο διαλύτης. Ακολούθησε εκχύλιση με οξικό αιθυλεστέρα, πλύση με νερό και η οργανική φάση ξηράθηκε με Na₂SO₄, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε υπό κενό. Πραγματοποιήθηκε χρωματογραφία στήλης με οξικό αιθυλεστέρα/η-εξάνιο σε αναλογία 6:4 δίνοντας το προϊόν **9** υπό τη μορφή κίτρινου σιροπιού. (Μάζα 2.71g, απόδοση 76%, R_f:0.42)

16. Σύνθεση της 1,2,4-τρι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζη (**10**)



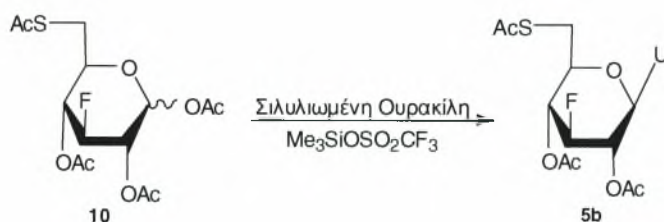
Ένα διάλυμα του προϊόντος **9** (2.5g, 6.9mmol) σε υδατικό διάλυμα 90% TFA (172.5mL) αναδεύτηκε για 20 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Ακολούθησε συμπύκνωση του μίγματος της αντίδρασης το οποίο πήρε τη μορφή άχρωμου ελαίου. Η ακετυλίωση πραγματοποιήθηκε με Ac₂O - πυριδίνη (1:2, 36.5mL) και ο καθαρισμός με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας οξικό αιθυλεστέρα/η-εξάνιο σε αναλογία 6:4, δίνοντας έτσι το προϊόν **10** με τη μορφή άχρωμου σιροπιού. (Μάζα 1.77g, απόδοση 70%, R_f:0.45)

17. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνης (**5a**)



Ένα μίγμα θυμίνης (1.00g, 7.98mmol), εξαμεθυλοδισιλαζανίου (HMDS) (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.07g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH_3CN (28mL) αφέθηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol), ο χλωριούχος κασσίτερος (0.90mL, 7.98mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για 2 h υπό αναβρασμό. Στη συνέχεια το μίγμα ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με ένυδρο NaHCO_3 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε, διηθήθηκε, συμπυκνώθηκε μέχρι πλήρους ξήρανσης και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας/n-εξάνιο σε αναλογία 6:4. Το προϊόν **5a** λήφθηκε υπό τη μορφή στερεού. (Μάζα 1.90g, απόδοση 77%, R_f :0.4)

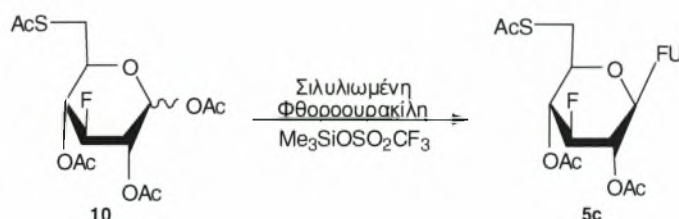
18. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλης (**5b**)



Ένα μίγμα ουρακίλης (0.89g, 7.98mmol), HMDS (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.07g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH_3CN (28mL) αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol) και τριφθορομεθανοσουλφονικός τριμεθυλοσιλιλεστέρας (1.44mL, 7.98mmol) και το νέο μίγμα αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 3 h, ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με ένυδρο

NaHCO₃ και εκχυλίστηκε με CH₂Cl₂ (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε, συμπυκνώθηκε μέχρι πλήρους ξήρανσης και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικό αιθυλεστέρα/η-εξάνιο σε αναλογία 7:3. Το προϊόν **5b** λήφθηκε υπό τη μορφή στερεού. (Μάζα 1.81, απόδοση 76%, R_f:0.45)

19. Σύνθεση της 1-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)5-φθοροουρακίλης (**5c**)



Ένα μίγμα 5-φθοροουρακίλης (1.04g, 7.98mmol), HMDS (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.07g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28mL) αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol) και τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (1.44mL, 7.98mmol) και το νέο μίγμα αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 3 h, ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO₃ και εκχυλίστηκε με CH₂Cl₂ (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na₂SO₄, συμπυκνώθηκε υπό κενό και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με χρήση οξικού αιθυλεστέρα/η-εξάνιου σε αναλογία 6:4. Το προϊόν **5c** λήφθηκε με τη μορφή στερεού. (Μάζα 2.02g, απόδοση 68%, R_f:0.47)

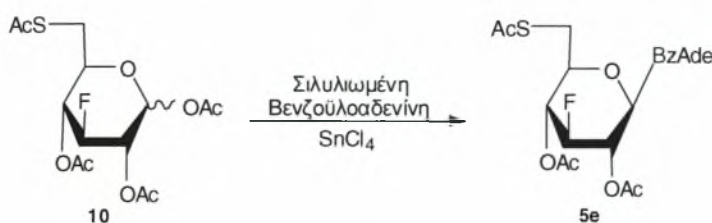
20. Σύνθεση της 11-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁴-βενζυόλο κυτοσίνης (**5d**)



Ένα μίγμα *N*⁴-βενζυόλο κυτοσίνης (1.71g, 7.98mmol), HMDS (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.068g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH₃CN

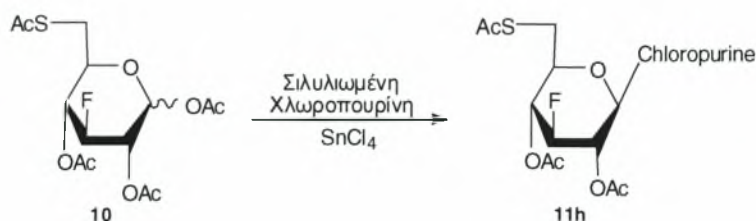
(28mL) αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol) και τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (1.44mL, 7.98mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 2h. Στη συνέχεια ακολούθησε ψύξη του μίγματος, εξουδετέρωση με NaHCO₃ και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na₂SO₄, συμπυκνώθηκε μέχρι πλήρους ξήρανσης και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας/η-εξάνιο σε αναλογία 8:2. Το προϊόν **5d** λήφθηκε υπό τη μορφή στερεού.(Μάζα 2.02g, απόδοση 68%, R_f:0.32)

21. Σύνθεση της 9-(2,4-δι-Ο-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)*N*⁶-βενζοϋλο αδενίνης (**5e**)



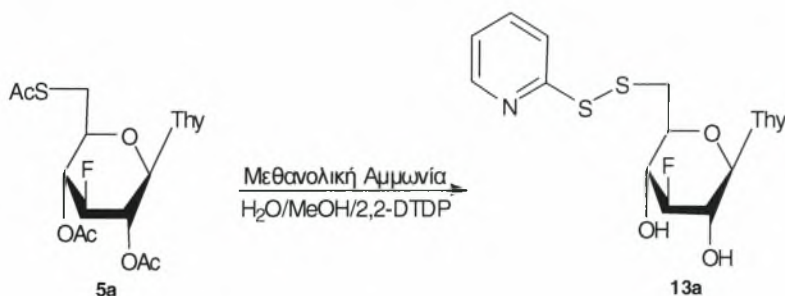
Ένα μίγμα *N*⁶-βενζοϋλο αδενίνης (1.90g, 7.98mmol), HMDS (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.07g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28mL) αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol), χλωριούχος κασσίτερος (0.90mL, 7.98mmol) και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για 2 h υπό αναβρασμό. Στη συνέχεια ακολούθησε ψύξη του μίγματος, εξουδετέρωση με NaHCO₃ και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na₂SO₄, συμπυκνώθηκε μέχρι πλήρους ξήρανσης και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας/η-εξάνιο σε αναλογία 8:2. Το προϊόν **5e** είχε τη μορφή στερεού.(Μάζα 1.90g, απόδοση 77%, R_f:0.24)

22. Σύνθεση της 9-(2,4-δι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-ακετυλο-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο)-6-χλωροπυρίνης (**11h**)



Ένα μίγμα 6-χλωροπυρίνης (1.23g, 7.98mmol), HMDS (2.0mL, 9.90mmol) και σακχαρίνης (0.068g, 0.37mmol) σε άνυδρο CH₃CN (28mL) αναδεύτηκε υπό αναβρασμό για 30 λεπτά. Στη συνέχεια προστέθηκαν η ένωση **10** (2.09g, 5.70mmol) και τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (1.44mL, 7.98mmol), και το μίγμα της αντίδρασης αναδεύτηκε για 2 ώρες υπό αναβρασμό. Στη συνέχεια ακολούθησε ψύξη του μίγματος, εξουδετέρωση με NaHCO₃ και εκχύλιση με CH₂Cl₂ (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na₂SO₄, συμπυκνώθηκε μέχρι πλήρους ξήρανσης και καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας/η-εξάνιο σε αναλογία 8:2. Το προϊόν **11h** είχε τη μορφή κίτρινου αφρού. (Μάζα 1.77g, απόδοση 68%, R_f:0.30)

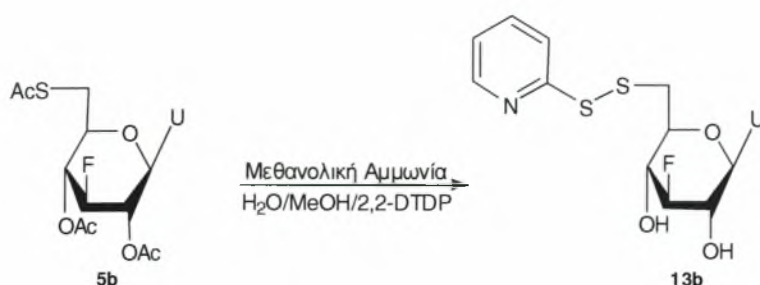
23. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-β-*D*-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνης (**13a**) από την ένωση **5a**



Σε διάλυμα της ένωσης **5a** (1.10g, 2.5mmol) σε μεθανολική αμμωνία(104 mL) προστέθηκε σταγόνα-σταγόνα διάλυμα 2,2-dipyridyl-disulfide (DTDP) (2.6g, 12mmol) σε MeOH:H₂O (1:1, 22mL). Το μίγμα

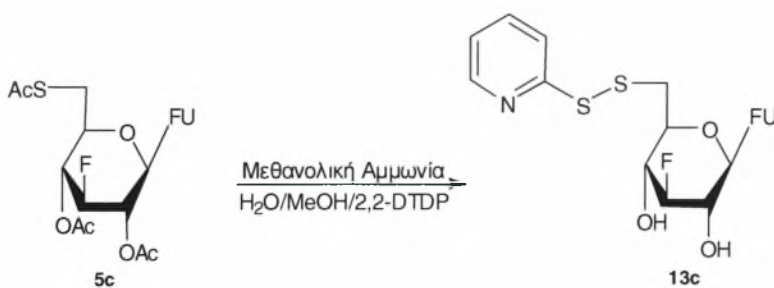
αναδεύτηκε για 20 h σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια συμπυκνώθηκε. Το προϊόν καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε οξικό αιθυλεστέρα και μετά τη συμπύκνωση του λήφθηκε υπό τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 0.71g, απόδοση 68%, R_f :0.30)

24. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλης (**13b**) από την ένωση **5b**



Το προϊόν **13b** συντέθηκε από την ένωση **5b** με διαδικασία αντίστοιχη αυτής που περιγράφηκε για το προϊόν **13a**. Ο καθαρισμός έγινε με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας οξικό αιθυλεστέρα και το προϊόν είχε τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 0.70g, απόδοση 70%, R_f :0.27)

25. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]5-φθοροουρακίλης (**13c**) από την ένωση **5c**



Το προϊόν **13c** συντέθηκε από την ένωση **5c** με διαδικασία αντίστοιχη αυτής που περιγράφηκε για το προϊόν **13a**. Ο καθαρισμός έγινε με χρωματογραφία στήλης χρησιμοποιώντας οξικό αιθυλεστέρα και το προϊόν είχε τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 0.72g, απόδοση 69%, R_f :0.25)

26. Σύνθεση του 6-6-δισουλφιδίου της [1-(3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)]θυμίνης (**12a**)



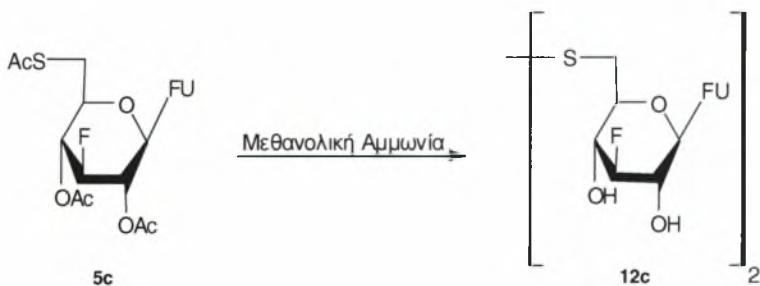
Ένα μίγμα μεθανολικής αμμωνίας (72.3mL) και του θειονουκλεοζίτη **5a** (0.75g, 1.73mmol) αναδεύτηκε σε θερμοκρασία δωματίου για 4 ώρες. Το μίγμα συμπυκνώθηκε και μ'αυτόν τον τρόπο ελήφθη το δισουλφίδιο **12a** με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 0.95g, απόδοση 90%)

27. Σύνθεση του 6-6-δισουλφιδίου της [1-(3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)]ουρακίλης (**12b**)



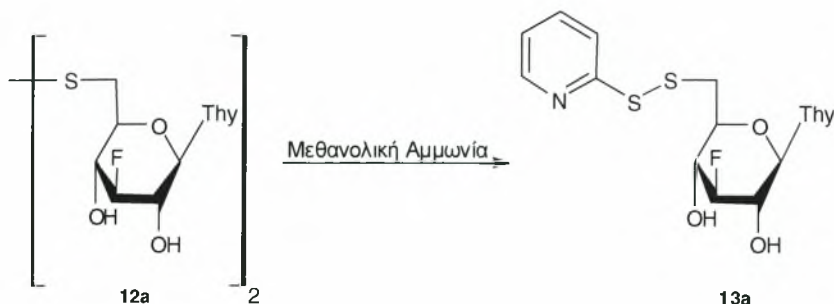
Το προϊόν **12b** συντέθηκε από τον θειονουκλεοζίτη **5b** με διαδικασία αντίστοιχη της σύνθεσης του **12a**. (Μάζα 0.89g, απόδοση 88%)

28. Σύνθεση του 6-6-δισουλφιδίου της [1-(3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)]5-φθοροουρακίλης (**12c**)



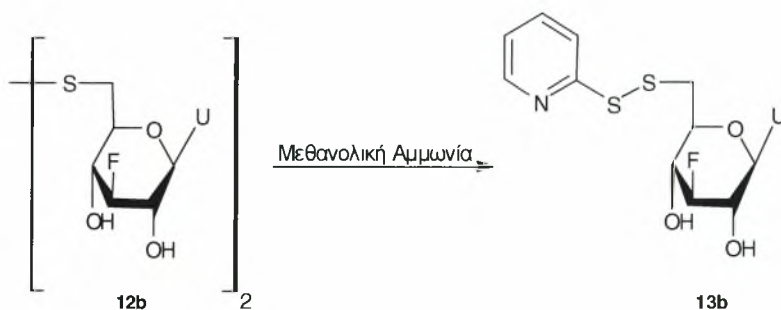
Το προϊόν **12c** συντέθηκε από τον θειονουκλεοζίτη **5c** με διαδικασία αντίστοιχη της σύνθεσης του **12a**. (Μάζα 0.95g, απόδοση 89%)

29. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνης (**13a**) από την ένωση **12a**



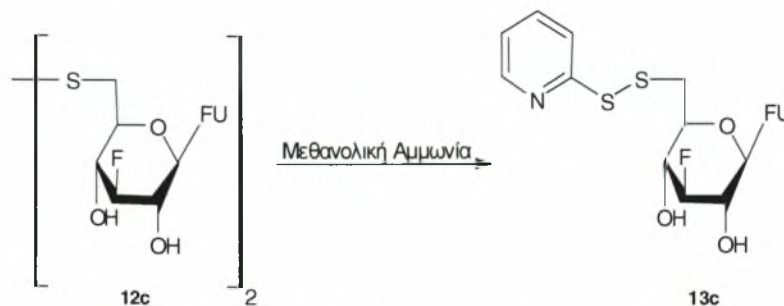
Σε διάλυμα του προϊόντος **12a** (1.83g, 3.00mmol) σε μεθανόλη (26mL) προστέθηκε σταγόνα-σταγόνα διάλυμα DTDP (3,16g, 14.46mmol) σε MeOH:H₂O (1:1, 26mL). Η αντίδραση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου 12 ώρες. Μετά από έλεγχο της αντίδρασης με χρωματογραφία χάρτου (tlc), οι διαλύτες απομακρύνθηκαν κατω από μειωμένη πίεση και το κίτρινο κατάλοιπο καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης με τη χρήση οξικού αιθυλεστέρα δίνοντας το προϊόν υπό τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 0.88g, απόδοση 71%, R_f:0.30)

30. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλης (**13b**) από την ένωση **12b**



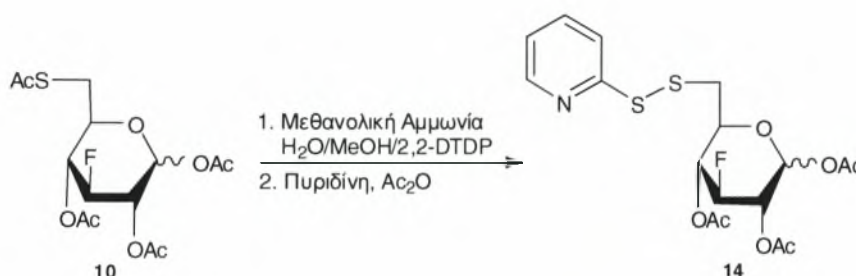
Το προϊόν **13b** συντέθηκε από την ένωση **12b** με διαδικασία αντίστοιχη της σύνθεσης του **13a**. (Μάζα 0.83g, απόδοση 69%, R_f:0.27)

31. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]5-φθοροουρακίλης (**13c**) από την ένωση **12c**



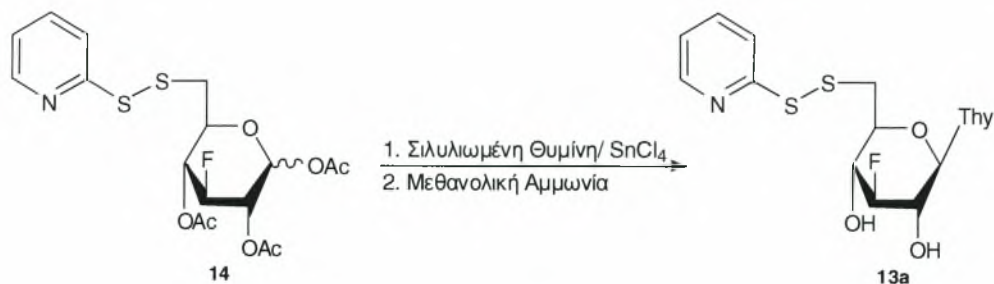
Το προϊόν **13c** συντέθηκε από την ένωση **12c** με διαδικασία αντίστοιχη της σύνθεσης του **13a**. (Μάζα 0.86g, απόδοση 68%, R_f :0.25)

32. Σύνθεση της 1,2,4-τρι-*O*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-D-γλυκοπυρανόζης (**14**)



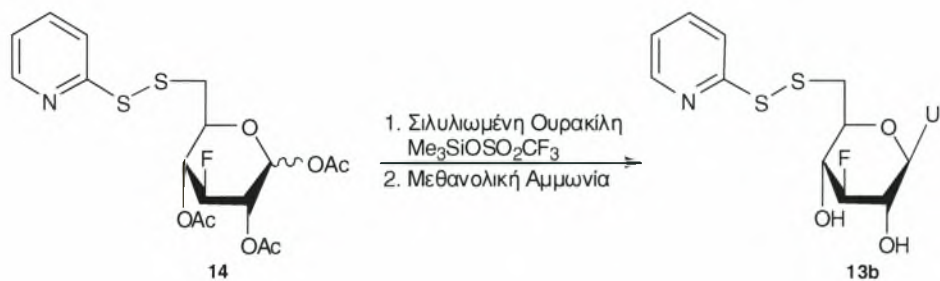
Σε διάλυμα του προϊόντος **10** (2.00g, 5.46mmol) σε μεθανολική αμμωνία (228mL) προστέθηκε σταγόνα-σταγόνα διάλυμα DTDP (9.55g, 43.70mmol) σε MeOH:H₂O (1:1, 47mL). Η αντίδραση ολοκληρώθηκε σε 20 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου και στη συνέχεια το μίγμα συμπυκνώθηκε. Η ακετυλίωση πραγματοποιήθηκε με Ac₂O-πυριδίνη (1:2, 109mL) και ο καθαρισμός πραγματοποιήθηκε με χρωματογραφία στήλης όπου χρησιμοποιήθηκαν οξικός αιθυλεστέρας/η-εξάνιο σε αναλογία 6:4. Το προϊόν **14** απομονώθηκε με τη μορφή άχρωμου σιροπιού. (Μάζα 1.67g, απόδοση 70%, R_f :0.45)

33. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνης (**13a**) από την ένωση **14**



Θυμίνη (2.33g, 18.55mmol), HMDS (4.8mL, 23mmol) και σακχαρίνη (0.16g, 0.85mmol) διαλυμένα σε άνυδρο CH₃CN (69mL) αναδεύτηκαν για 30 λεπτά υπό αναβρασμό. Η ένωση **14** μαζί με χλωριούχο κασσίτερο(3.1mL, 17.22mmol) προστέθηκαν στη συνέχεια, και το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε υπό αναβρασμό για 5 h. Στη συνέχεια ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO₃ και εκχυλίστηκε με CH₂Cl₂(500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na₂SO₄, διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Το ενδιαμέσο προϊόν αποακετυλιώθηκε με μεθανολική αμμωνία (550 mL). Η αποακετυλίωση ολοκληρώθηκε σε 4 h και το προϊόν αφού καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης (με οξικό αιθυλεστέρα) συλλεχθηκε με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 3.53g, απόδοση 64%, R_f:0.30)

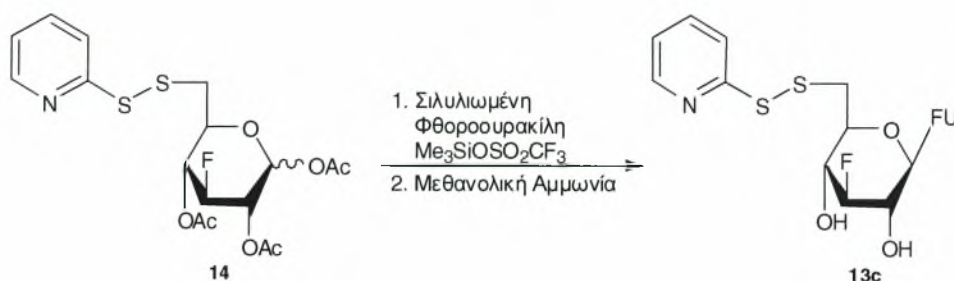
34. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλης (**13b**) από την ένωση **14**



Ουρακίλη(2.08g, 18.55mmol), HMDS (4.8mL, 23mmol) και σακχαρίνη (0.16g, 0.85mmol) διαλυμένα σε άνυδρο CH₃CN (69mL) αναδεύτηκαν για 30 λεπτά υπό αναβρασμό. Η ένωση **14** μαζί με τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (3.1mL, 17.22mmol) προστέθηκαν στη συνέχεια, και το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε υπό

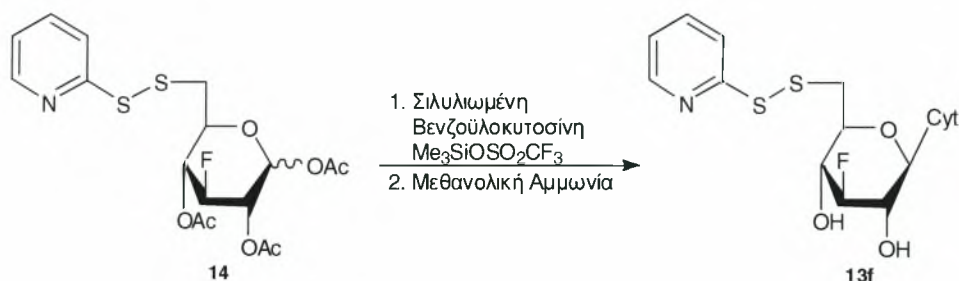
αναβρασμό για 5 h. Στη συνέχεια ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO_3 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράθηκε με Na_2SO_4 , διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Το ενδιάμεσο προϊόν αποακετυλιώθηκε με μεθανολική αμμωνία (550 mL). Η αποακετυλίωση ολοκληρώθηκε σε 4 h και το προϊόν αφού καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης (με οξικό αιθυλεστέρα) συλλέχθηκε με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 3.29g, απόδοση 62%, R_f :0.27)

35. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοκυρανοζυλο]5-φθοροουρακίλης (**13c**) από την ένωση **14**



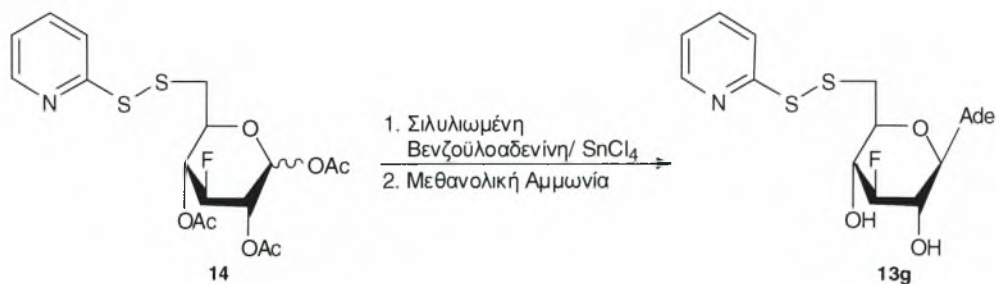
5-φθοροουρακίλη (2.41g, 18.55mmol), HMDS (4.8mL, 23mmol) και σακχαρίνη (0.16g, 0.85mmol) διαλυμένα σε άνυδρο CH_3CN (69mL) αναδεύτηκαν για 30 λεπτά(υπό αναβρασμό. Η ένωση **14** μαζί με τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (3.1mL, 17.22mmol) προστέθηκαν στη συνέχεια, και το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε υπό αναβρασμό για 5 h. Στη συνέχεια ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO_3 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράθηκε με Na_2SO_4 , διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Το ενδιάμεσο προϊόν αποακετυλιώθηκε με μεθανολική αμμωνία (550 mL). Η αποακετυλίωση ολοκληρώθηκε σε 4 h και το προϊόν αφού καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης (οξικός αιθυλεστέρας) συλλέχθηκε με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 3.89g, απόδοση 70%, R_f :0.25)

36. Σύνθεση της 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]κυτοσίνης (**13f**) από την ένωση **14**



N^4 -βενζοϋλο κυτοσίνη (3.99g, 18.55mmol), HMDS (4.8mL, 23mmol) και σακχαρίνη (0.16g, 0.85mmol) διαλυμένα σε άνυδρο CH_3CN (69mL) αναδεύτηκαν για 30 λεπτά υπό αναβρασμό. Η ένωση **14** μαζί με τριφθορομεθανοσουλφονικό τριμεθυλοσιλυλέστερο (3.1mL, 17.22mmol) προστέθηκαν στη συνέχεια, και το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε υπό αναβρασμό για 5 h. Στη συνέχεια ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO_3 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na_2SO_4 , διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Το ενδιάμεσο προϊόν αποακετυλιώθηκε με μεθανολική αμμωνία (550mL). Η αποακετυλίωση ολοκληρώθηκε σε 4 h και το προϊόν αφού καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης σε οξικό αιθυλεστέρα, συλλέχθηκε με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 3.60g, απόδοση 68%, R_f :0.32)

37. Σύνθεση της 9-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]αδενίνης (**13g**) από την ένωση **14**



N^6 -βενζοϋλο αδενίνη (2.93g, 12.25mmol), HMDS (3.1mL, 15.19mmol) και σακχαρίνη (0.10g, 0.56mmol) διαλυμένα σε άνυδρο CH_3CN (46mL) αναδεύτηκαν για 30 λεπτά υπό αναβρασμό. Η ένωση **14** (3.80g, 8.75mmol) μαζί με χλωριούχο κασσίτερο (1.38mL, 12.25mmol)

προστέθηκαν στη συνέχεια, και το μίγμα της αντίδρασης αφέθηκε υπό αναβρασμό για 5 h. Στη συνέχεια ψύχθηκε, εξουδετερώθηκε με NaHCO_3 και εκχυλίστηκε με CH_2Cl_2 (500mL). Η οργανική φάση πλύθηκε με νερό (3x10mL), ξηράνθηκε με Na_2SO_4 , διηθήθηκε και συμπυκνώθηκε. Το ενδιάμεσο προϊόν αποακετυλιώθηκε με μεθανολική αμμωνία (512mL). Η αποακετυλίωση ολοκληρώθηκε σε 4 h και το προϊόν αφού καθαρίστηκε με χρωματογραφία στήλης (με οξικό αιθυλεστέρα/n-εξάνιο 9:1) συλλέχτηκε με τη μορφή λευκού αφρού. (Μάζα 3.32g, απόδοση 64%, R_f :0.32)

Κινητή Φάση Διαλυτών Ένωση	AcOEt	AcOEt:Hex 9:1	AcOEt:Hex 8:2	AcOEt:Hex 7:3	AcOEt:Hex 6:4	AcOEt:Hex 5:5
3f	R _f -015 A-90%					
3g	R _f -0.12 A-88%					
4a					R _f -0.35 A-62%	
4b				R _f -0.4 A-62%		
4c					R _f -0.4 A-60%	
4d					R _f -0.4 A-62%	
4e				R _f -0.3 A-64%		
5a					R _f -0.4 A-78%	
5b				R _f -0.45 A-76%		
5c					R _f -0.47 A-75%	
5d			R _f -0.32 A-68%			
5e			R _f -0.24 A-60%			
7						R _f -0.45 A-74%
8				R _f -0.48 A-78%		
9					R _f -0.42 A-76%	
10					R _f -0.45 A-70%	
11h			R _f -0.30 A-68%			
13a	R _f -0.30 A-68%					
13b	R _f -0.27 A-70%					
13c	R _f -0.25 A-69%					
13f	R _f -0.32 A-68%					
13g		R _f -0.32 A-64%				
14					R _f -0.45 A-70%	

Πίνακας 1. Πίνακας Κινητών Φάσεων Διαλυτών τlc και Προϊόντων

4.Αποτελέσματα-Συζήτηση

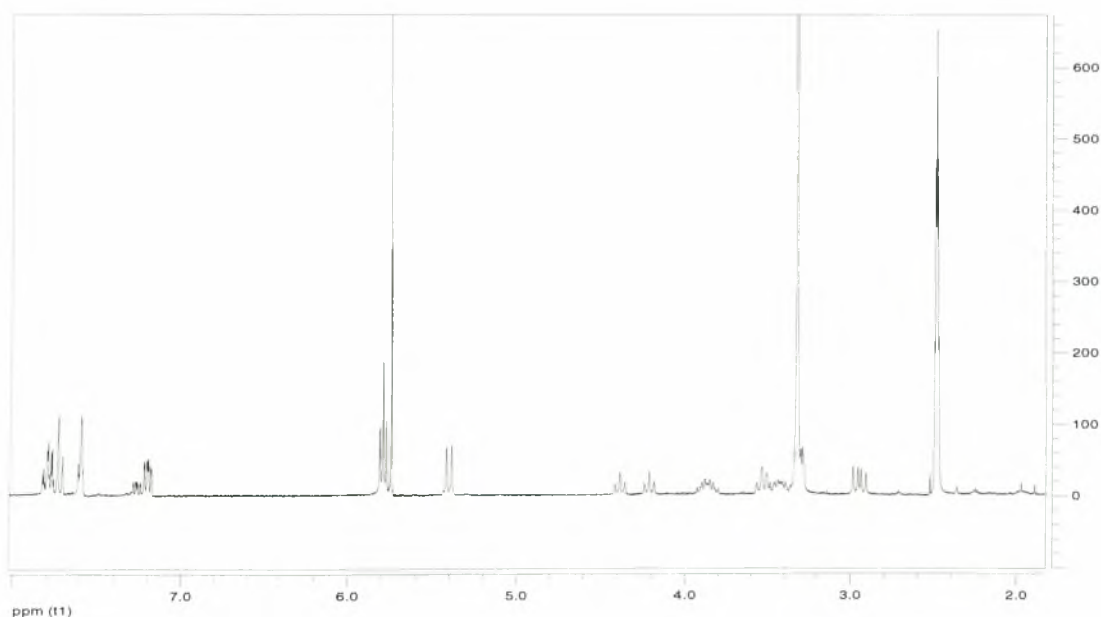
4.1.Χημικά χαρακτηριστικά ενώσεων

Στην παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε η σύνθεση μίας νέας τάξης φθοροθειονουκλεοζιτών και των αντίστοιχων φθοριωμένων θειοπυριδινυλικών αναλόγων τους. Η νέα τάξη των φθοροθειονουκλεοζιτών, η οποία έχει στη θέση του σακχάρου έναν εξαμελή δακτύλιο, φέρει ως ετεροκυκλικές βάσεις θυμίνη, ουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, βενζοϋλο-κυτοσίνη, βενζοϋλο-αδενίνη ή χλωροπυρίνη, φθόριο στη θέση 3' και θείο στη θέση 6' του σακχάρου, όπως αναφέρθηκε προηγουμένως. Αντίστοιχα τα νέα φθοριωμένα θειοπυριδινυλικά ανάλογα τα οποία ομοίως έχουν στη θέση του σακχάρου έναν εξαμελή δακτύλιο, φέρει ως ετεροκυκλικές βάσεις θυμίνη, ουρακίλη, 5-φθοροουρακίλη, κυτοσίνη ή αδενίνη, φθόριο στη θέση 3' και θειοπυριδινυλική ομάδα στη θέση 6' του σακχάρου. Η πιθανή βιολογική δράση υπήρξε το έναυσμα για την εύρεση μίας σχετικά εύκολης πειραματικής διαδικασίας για τη σύνθεση των νέων αυτών τροποποιημένων νουκλεοζιτών.

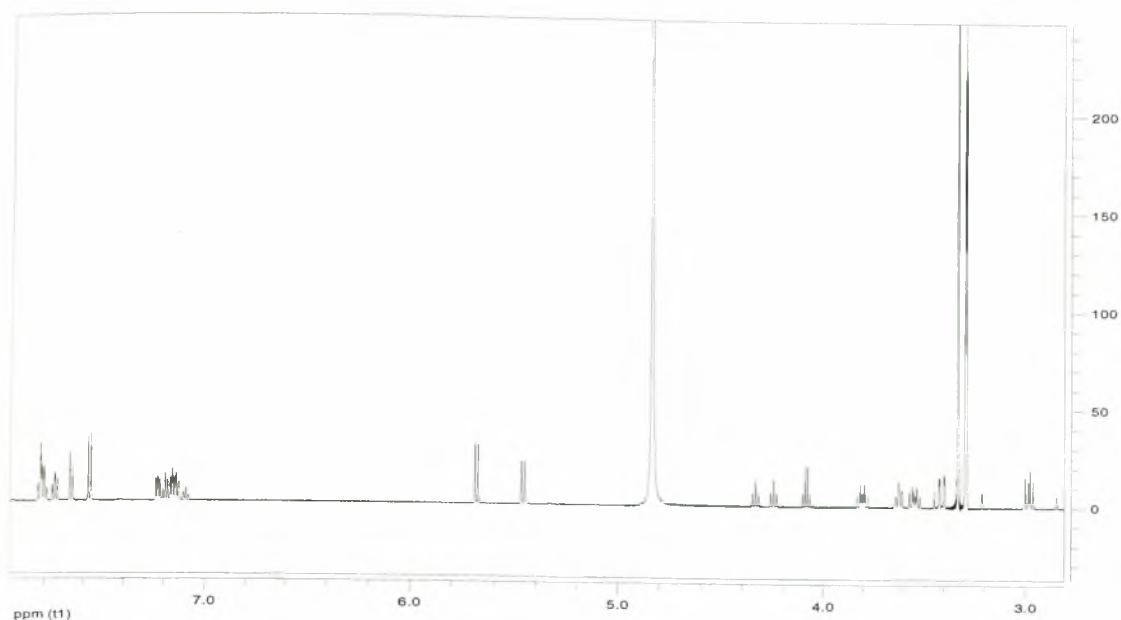
Οι τελικές αποδόσεις της σύνθεσης των τελικών προϊόντων θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν αρκετά καλές. Συγκεκριμένα, η σύνθεση της 1-(2,4-δι-Ο-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)θυμίνης (**5a**) είχε απόδοση 78%, της 1-(2,4-δι-Ο-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο)ουρακίλης (**5b**) είχε απόδοση 76%, της 1-(2,4-δι-Ο-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο) 5-φθοροουρακίλης (**5c**) 75%, της 1-(2,4-δι-Ο-ακέτυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο) *N*⁴-βενζοϋλο κυτοσίνης (**5d**) 68%, και της 1-(2,4-δι-Ο-ακετυλο-6-*S*-ακετυλο-3-δεοξυ-3-φθορο-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο) *N*⁶-βενζοϋλο αδενίνη (**5e**) 60%. Αντίστοιχα οι αποδόσεις της σύνθεσης των φθοριωμένων θειοπυριδινυλικών αναλόγων ήταν για την 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]θυμίνη (**13a**) 64%, για την 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]ουρακίλη (**13b**) 62%, για την 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-*S*-(2-*S*-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]-5-

φθοροουρακίλη (**13c**) 70%, για την 1-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]κυτοσίνη (**13f**) 68%, για την 9-[3-δεοξυ-3-φθορο-6-S-(2-S-πυριδινυλο)-6-θειο-β-D-γλυκοπυρανοζυλο]αδενίνη (**13g**) 64%.

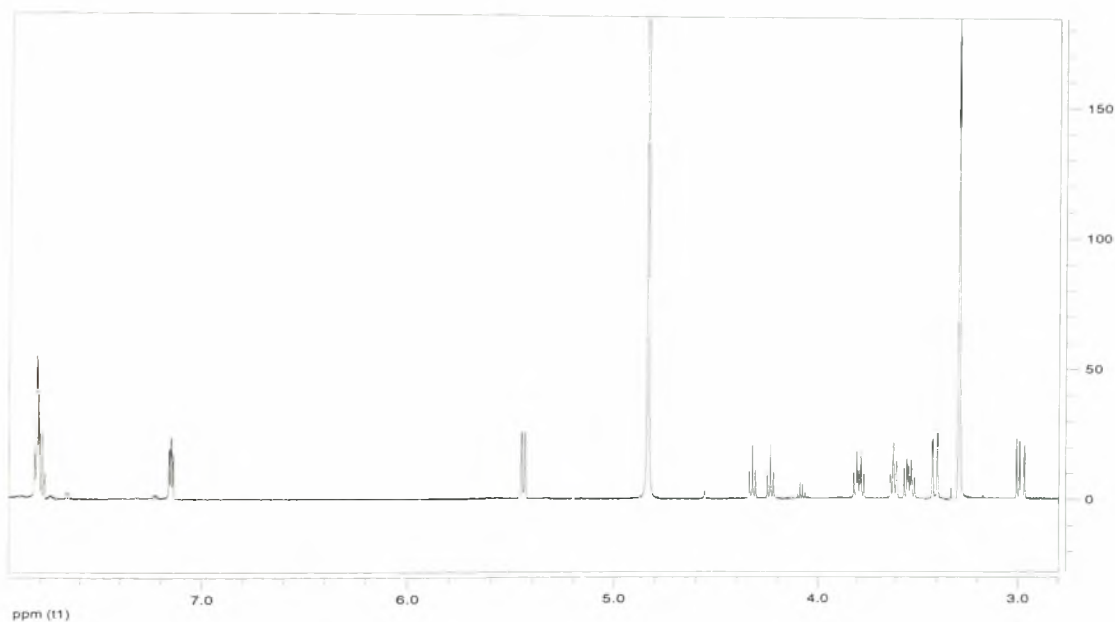
Όλες οι νέες ενώσεις χαρακτηρίζονται από στοιχειώδεις αναλύσεις και αναλύσεις φάσματος πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού $^1\text{H NMR}$. Τα δεδομένα από το $^1\text{H NMR}$ για τις ενώσεις **5a-e** και **11h** έδειξαν ότι οι ενώσεις είχαν τη β-διαμόρφωση ($J_{1,2} > 8.0\text{Hz}$). Είναι αξιοπρόσεκτο το γεγονός ότι οι επιθυμητες τελικές ενώσεις **5a-e** και **11h** εμφανίζουν ισχυρή απορρόφηση στο φάσμα υπερύθρου (IR) στα 1750 cm^{-1} (OAc) και 1697 cm^{-1} (SAc), ενώ το $^1\text{H NMR}$ φάσμα τους εμφανίζει φανερά σήματα τριών πρωτονίων μεθυλίου που αποδίδονται στο τμήμα SAc (**5a**: δ 2.37, **5b**: δ 2.37, **5c**: δ 2.36, **5d**: δ 2.35, **5e**: δ 2.35, **11h**: δ 2.37) και κορυφές 6 πρωτονίων μεθυλίου, οι οποίες αντιστοιχούν στην ομάδα OAc (**5a**: δ 2.08, 2.21, **5b**: δ 2.19, 2.07, **5c**: δ 2.19, 2.08, **5d**: δ 2.23, 1.84, **5e**: δ 2.20, 2.05, **11h**: δ 2.30, 1.94).



Διάγραμμα 1: Φάσμα $^1\text{H NMR}$ του προϊόντος **13a**



Διάγραμμα 2: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος **13b**



Διάγραμμα 3: Φάσμα ^1H NMR του προϊόντος **13c**

Βρέθηκε ότι οι τροποποιημένοι νουκλεοζίτες παίρνουν μέρος στην αντιμετώπιση και θεραπεία ασθενειών με τη δράση τους ως αντιιικά και αντικαρκινικά φάρμακα. Εξαιτίας αυτού κρίθηκε σημαντική και η αξιολόγηση της βιολογικής δράσης των νεοσυντιθέμενων νουκλεοζιτών.

4.2. Ανάπτυξη ανασταλτικής δραστηριότητας

Οι νέοι φθοριωμένοι θειοπυριδινυλικοί νουκλεοζίτες **13a-c,f,g** εξετάστηκαν ως προς την ανασταλτική τους δράση έναντι του πολλαπλασιασμού λευχαιμικών κυττάρων (L1210), καρκινικών κυττάρων του μαστού (FM3A), καθώς και των ανθρώπινων T-λεμφοκυττάρων (Molt4/C8, CEM), και των ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων του τραχήλου (HeLa).

Compound	IC ₅₀ (μg/ml)				
	L1210	FM3A	Molt4/C8	CEM	HeLa
13a	120 ± 56	> 200	84 ± 4	106 ± 21	
13b	9.5 ± 0.0	17 ± 4		9.2 ± 1.1	8.8 ± 0.7
13c	54 ± 19	35 ± 2		43 ± 3	35 ± 3
13f	> 500	> 500		> 500	369 ± 7
13g	238 ± 41	≥ 500		228 ± 36	192 ± 9

Πίνακας 2. Ανασταλτική δράση των ενώσεων **13a-c,f,g** έναντι του πολλαπλασιασμού των κυττάρων L1210, FM3A, Molt4/C8, CEM, HeLa.

Γενικότερα, αν και κάποιες από τις εξεταζόμενες ενώσεις παρουσίασαν ελάχιστη ανασταλτική δράση, ο νουκλεοζίτης **13c** και ειδικότερα ο νουκλεοζίτης **13b** παρουσίασαν αξιοσημείωτη κυτταροστατική δράση και μπορούν να θεωρηθούν πρόδρομες ενώσεις για περαιτέρω τροποποιήσεις. Θα ήταν λοιπόν ενδιαφέρον να μελετηθεί η σχέση δόμης-δράσης των μορίων τόσο τροποποιώντας το τμήμα της ετεροκυκλικής βάσης όσο και το τμήμα του σακχάρου.

Συμπερασματικά, αν και οι νεοσυντιθέμενοι φθοριωμένοι θειοπυριδινυλικοί νουκλεοζίτες δεν εμφάνισαν ιδιαίτερη αντικαρκινική δράση, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν περαιτέρω βιολογικές μελέτες εφόσον έχει επιβεβαιωθεί ότι η παρουσία του θείου και του φθορίου αυξάνουν σημαντικά τη δραστηριότητα των νουκλεοζιτών.

Βιβλιογραφία

1. John McMurry, Οργανική Χημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2000 : 151- 152, 905.
2. Lubert Stryer, Βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 1997:347-354.
3. Hartman C.T., Coward J. K., *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, *124*, 10036.
4. Page, Curtis, Sutter, Walker, Hoffman, Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης, 1997: 4, 26.
5. Zhou W., Gumina G., Chong Y., Wang J., Schinazi F. R., Chu K. C., Synthesis, Structure- Activity Relationships, and Drug Resistance of 3-D-3-Fluoro-2,3-Unsaturated Nucleosides as Anti-HIV Agents, *Med. Chem.*, **2004**, *47* (13), 3399-3408.
6. Vander, M. D. Sherman, Ph. D.Luciano, Ph. D. M. Tsakoulos, Φυσιολογία του ανθρώπου, μηχανισμοί λειτουργίας του οργανισμού.
7. http://www.idenix.com/science/sci_nucleosides.html
8. Chong Y., Gumina G., Mathew JS., Schinazi RF, Chu CK, 1-2,3-Didehydro-2,3-dideoxy-3-fluoronucleosides: synthesis, anti- HIV activity, chemical and enzymatic stability, and mechanism of resistance, *Med. Chem.*, **2003**, *46* (15), 3245-56.
9. John M. Clark, Jr and Robert L. Switzer, Πειραματική βιοχημεία, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 1992.
10. Benjamin Lewin, Genes VIII:6- 8.
11. Christopher J. Burns, Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Hepatitis C Virus (HCV), *Cur. Med. Chem. Anti-Infective Agents*, **2005**, *4* (2).
12. <http://www.answers.com/topic/zidovudine-1>
13. <http://www.answers.com/topic/zidovudine?h1=zidovudine>
14. <http://www.pathmicro.med.sc.edu/lecture/chemo.html>
15. <http://www.answers.com/topic/ddi>
16. <http://www.answers.com/topic/ddc>
17. Thibaudeau C., Plavec J., Chattopadhyaya J., A New Generalized Karplus-Type Equation Relating Vicinal Proton- Fluorine Coupling Constants to H-C-C-F Torsion Angles, *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4967-4982.

18. Miura, S. ; Yosimura, Y. ; Endo, M. ; Machida, H. ; Matsuda, A. ; Tanaka, M. ; Sasaki, Antitumor activity of a novel orally effective nucleoside, 1-(2-deoxy-2-fluoro-4-thio- β -D-arabino5-FUranosyl)cytosine, *Cancer Lett.* **1998**, *129*, 103-110.
19. Tsoukala, E.; Manta, S.; Tzioumaki, N.; Agelis, G.; Komiotis, D. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 1099-1103.
20. <http://www.answers.com/topic/lamivudine>
21. Najim A. Al-Masoudi, Synthesis of 3-Deoxy-5-s-ethyl-5-thio- β -D-erythro-pento5-FUranosylthymine as potential Antitumor Agent, *Tetrahedron Lett.*, **1999**, *40*, 4795-4796.
22. Vastmans, K.; Pochet, S.; Peys, A.; Kerremans, L.; Van Aerschot, A.; Hendrix, C.; Marliere, P.; Herdewijn, P. *Biochemistry* **2000**, *39*, 12757-12765.
23. Vastmans, K.; Froeyen, M.; Kerremans, L.; Pochet, S.; Herdewijn, P. *Nucleic Acids Res.* **2001**, *29*, 3154-3163.
24. Ostrowski, T.; Wroblowski, B.; Busson, R.; Rozenski, J.; De Clercq, E.; Bennet, M. S.; Champness, J. N.; Summers, W. C.; Sanderson, M. R.; Herdewijn, P. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 4343-4353.
25. Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 980-987.
26. Tsoukala, E.; Agelis, G.; Dolinsek, J.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3241-3247.
27. Manta, S.; Agelis, G.; Botić, T.; Cencič, A.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* **2008**, *43*, 420-428.
28. Kyeong Lee, Yongseok Choi, Elizabeth Gullen, Susan Schlueter- Wirtz, Raymond F. Schinazi, Yung-Chi Cheng, and Chung K. Chu, Synthesis and Anti-HIV and Anti- HBV Activities of 2-Fluoro-2,3-unsaturated-L-Nucleosides, *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*(7), 1320-1328
29. Bozo, E.; Boros, S.; Kuzsmann, J.; Gacs-Baitz, E. ; Parkanyi, L *Carbohydr. Res.* **1998**, *308*, 297-310
30. Yuasa, H.; Tamura, J.; Hashimoto, H. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1* **1990**, 2763-2769
31. Baker C.D.; Horton, D.; Tindall, G.C. *Carbohydrate Res.* **1972**, *24*, 192

32. Foster, A.B.; Hems, R.; Webber, J.M. *Carbohydrate Res.* 1967, 5, 292
33. Manta, S.; Tzioumaki, N.; Tsoukala, E.; Panagiotopoulou, A.; Pelecanou, M.; Balzarini, J.; Komiotis, D. *Eur. J. Med. Chem.* 2009, 44, 4764
34. Hughes, A.N.; Munkombwe, M.N. *Carbohydrate Res.* 1985, 136, 397.
-